



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

JÚLIA ARIANA DE SOUZA GOMES

EVIDÊNCIAS PRÉ-CLÍNICAS DO EFEITO ANTIMANÍACO DE UM
ANTAGONISTA DO RECEPTOR DA ANGIOTENSINA

FORTALEZA
2014

JÚLIA ARIANA DE SOUZA GOMES

**EVIDÊNCIAS PRÉ-CLÍNICAS DO EFEITO ANTIMANÍACO DE UM
ANTAGONISTA DO RECEPTOR DA ANGIOTENSINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar

**FORTALEZA
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

G615e Gomes, Júlia Ariana de Souza.
Evidências pré-clínicas do efeito antimaníaco de um antagonista do receptor da angiotensina /
Júlia Ariana de Souza Gomes. – 2014.
94f. : il. color., enc. ; 30 cm.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fisiologia e
Farmacologia, Fortaleza, 2014.
Área de concentração: Farmacologia.
Orientação: Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar.

1. Anfetamina. 2. Transtorno Bipolar . 3. Angiotensinas II . I. Título.

CDD: 616.89

JÚLIA ARIANA DE SOUZA GOMES

**EVIDÊNCIAS PRÉ-CLÍNICAS DO EFEITO ANTIMANIACO DE UM
ANTAGONISTA DO RECEPTOR DA ANGIOTENSINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Danielle Macêdo Gaspar (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Carlos Clayton Torres Aguiar
Universidade de Fortaleza (Unifor)

Profa. Dra. Josiane Budni
Universidade do Extremo Sul Catarinense (Unesc)

À minha família e ao meu marido
por todo amor e apoio fundamentais.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, e a Maria por ter sempre estado à minha frente nas minhas decisões.

À minha orientadora, Professora Danielle Macêdo, a quem não tenho palavras para retribuir toda a minha gratidão pelo seu apoio e generosidade em todos os momentos do meu mestrado.

Ao meu marido, Gustavo, pela sua imensa compreensão, companheirismo e amor em todos os momentos, principalmente nos quais eu mais precisei.

Aos meus pais, Luiz e Rosânia, e aos meus queridos irmãos, Matheus, Marcos e Daniela que, mesmo distantes, mantiveram-se sempre muito perto de mim através do amor e da amizade.

À Greicy por ter estado comigo não só no laboratório, sempre disposta a me ajudar e tornar os experimentos muito mais divertidos, mas também por ter sido uma verdadeira amiga e parceira para todas as horas.

À Lígia, que sempre esteve disposta a me ajudar, obrigada pelo seu apoio, incentivo e amizade. Sua ajuda foi preciosa e essencial para a realização desse trabalho!

À Adriana pela sua companhia, amizade e carinho.

Ao Delvane e Stefânio pela ajuda, disponibilidade e amizade.

À Isabelle por ter me acolhido e ajudado a iniciar meu mestrado.

À Professora Cléa, Professora Silvânia e Professora Geanne e às suas alunas pelo apoio e disponibilidade em diversos momentos do experimento.

Às técnicas, Vilani e Lena pela atenção e apoio e a todos os colegas do Laboratório de Neurofarmacologia da UFC pela convivência e colaborações.

A CAPES pela bolsa de mestrado concedida, essencial para minha dedicação à pesquisa.

“Grandes realizações não são feitas por impulso, mas por uma soma de pequenos detalhes.”

(Vicent Van Gogh)

RESUMO

O Transtorno Afetivo Bipolar (TAB) é uma doença crônica, altamente incapacitante e associada a custo excessivo aos sistemas de saúde. Atualmente, reconhece-se o papel importante da Angiotensina II em transtornos de ansiedade e humor. A desregulação do Sistema renina-angiotensina (SRA) cerebral pela ativação de receptores da angiotensina II subtipo 1 (AT1Rs) está associada à formação de espécies reativas de oxigênio, ativação de vias pró-inflamatórias, redução da neuroplasticidade e disfunção mitocondrial, estando esses eventos relacionados com a fisiopatologia do TAB. Assim, objetivou-se avaliar a ação da candesartana (CDS) em um modelo animal de mania induzido por d-anfetamina (AMPH). Utilizou-se camundongos *Swiss* machos (peso: 20-25g) submetidos a dois protocolos de tratamento. No protocolo de prevenção (PP), os animais receberam CDS (0,1; 0,3; 1 ou 3 mg/Kg/dia), lítio (47,5 mg/Kg/dia) ou veículo por 14 dias e entre o 8º e o 14º dia receberam AMPH (2 mg/Kg/dia i.p) ou salina. No protocolo de reversão (PR), administrou-se AMPH ou salina por 14 dias e entre o 8º e o 14º dia os animais foram tratados com CDS, lítio ou veículo. No 14º dia, os animais foram submetidos aos testes comportamentais, campo aberto e Y Maze. Foram realizadas análises neuroquímicas para avaliar o estresse oxidativo (TBARS e GSH) no vérmis cerebelar (VC), córtex pré-frontal (PF), hipocampo (HPC) e corpo estriado (CE). Além disso, foram avaliados os níveis de BDNF, TNF- α e fosfo-Ser9-GSK-3 β para as doses de 0,3 e 1 mg/Kg de CDS. Os níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β e BDNF foram avaliados apenas no HPC e os níveis de TNF- α no HPC e VC. Em ambos os protocolos de tratamento, observou-se aumento da atividade locomotora nos grupos que receberam apenas AMPH, que foi prevenida e revertida pela CDS. Os resultados obtidos nos animais tratados com CDS + AMPH foram semelhantes aos do grupo controle e dos animais que receberam Lítio + AMPH. No teste de Y maze, a CDS conseguiu prevenir e reverter o prejuízo cognitivo causado pela AMPH e apenas as doses de CDS 0,1 no PP e 0,3 no PR não tiveram efeito, assim como o tratamento com lítio em ambos os protocolos. A CDS aumentou os níveis de GSH no HPC e VC no PP e no PF, HPC e CE no PR. Os níveis de TBARS foram reduzidos pela CDS no PF, HPC e VC no PP e no PF, HPC e CE no PR. Em ambos os protocolos de tratamento, a AMPH reduziu os níveis hipocámpais de BDNF e o lítio e ambas as doses de CDS avaliadas restauraram os níveis dessa neurotrófica. No PP, a AMPH e ambas as doses de CDS reduziram o nível de fosfo-Ser9-GSK-3 β que foi expressivamente aumentado pelo lítio. Os níveis de TNF- α foram aumentados pela AMPH e reduzidos pelo lítio no HPC e VC. Ambas as doses de CDS avaliadas tiveram efeito na prevenção do aumento de TNF- α no HPC e preveniram e reverteram esse aumento no VC. Juntos, os dados mostraram que a CDS, semelhante ao Li, é efetiva na prevenção e reversão de alterações comportamentais e neuroquímicas induzidas pela AMPH, com exceção da fosfo-Ser9-GSK-3 β , sugerindo que estudos sejam desenvolvidos para avaliação da atividade antimaniaca desse fármaco em pacientes bipolares, porém mais estudos pré-clínicos são necessários.

Palavras-chave: transtorno afetivo bipolar, d-anfetamina, mania, candesartana.

ABSTRACT

The Bipolar Disorder (BD) is a highly prevalent and chronic psychiatric disorder, associated with functional disability and excessive cost to the health system. The pharmacological therapy of BD displays low efficacy due the complex and poorly understood etiology, which makes it imperative to find new therapeutic targets for this disorder. The renin-angiotensin system (RAS) has been studied concerning neurological diseases, and is currently recognized important role of angiotensin II in anxiety and mood disorders. The deregulation of SRA brain is associated with the formation of reactive oxygen species, activation of proinflammatory pathways, reduced neuroplasticity and mitochondrial dysfunction. It is noteworthy that all these events are related to the pathophysiology of BD. Thus, this study aimed to evaluate the effect of candesartan (CDS) in an animal model of mania induced by d-amphetamine (AMPH). The animals were submitted to two treatment protocols. In prevention protocol, animals received CDS (0.1; 0.3; 1 or 3 mg/kg/day), lithium (47.5 mg/kg/day) or vehicle for 14 days and between the 8th and 14th day received AMPH (2 mg/kg/day ip) or saline. In reversal protocol, was administered AMPH or saline for 14 days and between the 8th and 14th day the animals were treated with CDS, lithium or vehicle. The effect of CDS was evaluated on 14th day by exploratory behavior of animals in the open field test used for pre-clinical study of antimanic drugs. The working memory was also evaluated by Y Maze test. Neurochemical analysis of oxidative stress (TBARS and GSH), was assessed in cerebellar vermis (CV), prefrontal cortex (PF), hippocampus (HPC) and striatum (ST). For evaluate the levels of BDNF, TNF- α e fosfo-Ser9-GSK-3 β , we used CDS 0,3 and CDS 1. BDNF and fosfo-Ser9-GSK-3 β was assessed only in HPC and TNF- α in HPC and CV. In both treatment protocols, there was an increase in locomotor activity in the animals that received only AMPH, which was prevented and reversed by CDS, whose results were similar to the control group and the animals that received AMPH and lithium. In the memory test, the CDS prevented and reversed the cognitive impairment caused by AMPH and only the CDS doses of 0.1 in prevention protocol and 0.3 in reversal protocol were not successful. Lithium treatment neither prevented nor reversed the cognitive impairment. The CDS increased GSH levels in HPC and CV in the prevention protocol and in PF, HPC and ST in the reversal protocol. The TBARS levels were reduced by CDS in PF, HPC and CV in the prevention protocol and in PF, HPC and ST in the reversal protocol. However, MDA level was increased by higher dose of CDS in ST in prevention protocol and by the two lower doses of CDS in CV in reversal protocol. In both treatment protocols, AMPH reduced BDNF and lithium and both doses of CDS restored the levels of this neurotrophin. In the prevention protocol, AMPH and both doses of CDS reduced the level of phospho-Ser9-GSK-3 β that was significantly increased by lithium. The levels of TNF- α were increased by AMPH and reduced by lithium in HPC and VC. CDS prevented the increase of TNF- α in HPC and prevented and reversed this increase in CV. Our findings showed that CDS, similarly to Li, is effective in reversing and preventing AMPH-induced behavioral and neurochemical alterations, providing a rationale for evaluating CDS as a novel antimanic agent, however new pre-clinical studies are necessary.

Key-words: bipolar disorder, mania, d-amphetamine, candesartan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mudanças de humor ao longo do tempo no transtorno bipolar I, transtorno bipolar II e depressão unipolar	16
Figura 2 - Ciclo redox da molécula de glutathiona	18
Figura 3 - Principais reações ocorridas durante o processo de peroxidação lipídica ...	19
Figura 4 - Vias envolvidas na sinalização das citocinas	24
Figura 5 - Vias de sinalização da Angiotensina II	32
Figura 6 - Estrutura molecular do candesartana	35
Figura 7 - Delineamento experimental na Reversão	39
Figura 8 - Delineamento experimental na Prevenção	40
Figura 9 - Teste de Campo Aberto	42
Figura 10 - Teste de Y maze	43
Figura 11 - Reação do malonaldeído com ácido tiobarbitúrico	44
Figura 12 - Atividade locomotora no protocolo de Prevenção	49
Figura 13 - Atividade locomotora no protocolo de Reversão	51
Figura 14 - Porcentagem de alternâncias corretas no teste de Y Maze	53
Figura 15 - Níveis de GSH das áreas cerebrais e cerebelar no protocolo de Prevenção	55
Figura 16 - Níveis de GSH das áreas cerebrais e cerebelar no protocolo de Reversão	57
Figura 17 - Níveis de MDA das áreas cerebrais e cerebelar no protocolo de Prevenção	59
Figura 18 - Níveis de MDA das áreas cerebrais e cerebelar no protocolo de Reversão	61
Figura 19 - Níveis de BDNF no hipocampo de animais submetidos ao modelo de mania induzido por AMPH	63
Figura 20 - Níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β no hipocampo de animais submetidos ao modelo de mania induzido por AMPH	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Protocolo de Reversão	42
Tabela 2 - Protocolos de Prevenção.....	43
Tabela 3 - Níveis de TNF- α no hipocampo e vérmis cerebelar de animais submetidos ao protocolo de Prevenção	65
Tabela 4 - Níveis de TNF- α no hipocampo e vérmis cerebelar de animais submetidos ao protocolo de Reversão	65

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT = Serotonina

AMPH = Anfetamina

Ang II = Angiotensina II

ARB = Bloqueador de receptor para Angiotensina

AT1R = Receptor da angiotensina II subtipo 1

AT2R = Receptor da angiotensina II subtipo 2

BDNF = Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro

CDS = Candesartana

CREB = Proteína ligada ao fator de transcrição do AMP cíclico

DA = Dopamina

DAT = Transportador de Dopamina

DSM = Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais

DTNB = reagente de Ellman [5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)]

ECA = Enzima Conversora de Angiotensina

EROs = Espécies Reativas de Oxigênio

GSK-3 β = glicogênio sintase quinase 3 beta

GPx = Glutathione Peroxidase

GR = Glutathione Redutase

GSH = Glutathione Reduzida

GSSG = Glutathione dissulfeto

H₂O₂ = Peróxido de hidrogênio

ICV = Intracerebroventricular

IL-1 β = Interleucina 1 beta

IL-10 = Interleucina 10

Li = Lítio

LPS = Lipopolissacarídeo

MDA = Malonaldeído

NO = Óxido Nítrico

NOX = NAD(P)H oxidase

NFκB = Fator Nuclear kapa B

O₂ = Oxigênio

OMS = Organização Mundial de Saúde

PGE2 = Prostaglandina E2

PPARγ = Receptor ativado por proliferador de peroxissomo gama

Sal = Salina

Ser = Serina

SHR = Ratos Espontaneamente Hipertensos

SNC = Sistema Nervoso Central

SOD = Superóxido Dismutase

SRA = Sistema Renina-Angiotensina

TAB = Transtorno Afetivo Bipolar

TBARS = Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TDAH = Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade

TNF-α = Fator de Necrose Tumoral alfa

Tyr = Tirosina

Veh = Veículo

VMAT = Transportador vesicular de monoamina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Transtorno Afetivo Bipolar.....	15
1.1.1 <i>Etiologia e Fisiopatologia</i>	17
1.1.1.1 Estresse Oxidativo.....	17
1.1.1.2 Neuroplasticidade.....	22
1.1.1.3 Neuroinflamação.....	24
1.1.1.4 Disfunção mitocondrial.....	26
1.2 Neuroprogressão do TAB.....	27
1.3 Sistema Renina-Angiotensina.....	28
1.3.1 <i>Sistema Renina-Angiotensina e Transtorno Afetivo Bipolar</i>	29
1.4 Modelos animais de mania.....	34
1.5 Áreas Cerebrais.....	36
1.6 Candesartana.....	37
1.7 Justificativa e Relevância.....	38
2 OBJETIVOS.....	39
2.1 Objetivo Geral.....	39
2.2 Objetivos Específicos.....	39
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1 Animais.....	40
3.2 Modelo Experimental.....	40
3.3 Delineamento Experimental.....	40
3.3.1 <i>Etapas experimentais</i>	41
3.3.1.1 Experimento 1.....	41
3.3.1.2 Experimento 2.....	41
3.3.2 <i>Protocolos de Tratamento</i>	41
3.3.2.1 Protocolo de Reversão.....	41

3.3.2.2 Protocolo de Prevenção	42
3.4 Testes comportamentais.....	43
3.4.1 Campo Aberto	44
3.4.2 Y maze	45
3.5 Análises Bioquímicas	46
3.5.1 Determinação da concentração de glutathiona reduzida (GSH).....	46
3.5.2 Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS)	46
3.5.3 Determinação dos níveis de BDNF	47
3.5.4 Dosagem dos níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β	48
3.5.5 Dosagem de TNF- α	48
3.6 Análise estatística	49
4 RESULTADOS	50
4.1 Avaliação da atividade locomotora.....	50
4.2 Avaliação da memória de trabalho	54
4.3 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida	56
4.4 Determinação da Peroxidação Lipídica	60
4.5 Avaliação dos parâmetros de neuroplasticidade	64
4.5.1 BDNF	64
4.5.2 Fosfo-Ser9-GSK-3 β	64
4.6 Avaliação dos níveis de TNF- α	66
5 DISCUSSÃO	68
6 CONCLUSÃO.....	77
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

1 INTRODUÇÃO

1.1 Transtorno Afetivo Bipolar

O Transtorno Afetivo Bipolar (TAB) é um transtorno mental crônico, prevalente, potencialmente grave e com curso clínico complexo, caracterizado pelo aparecimento de episódios de mania ou hipomania alternados com episódios de depressão (MÜLLER-OERLINGHAUSEN et al., 2002). A prevalência é de 2-7 % da população, dependendo da amostra e critério utilizados (FRIEDMAN et al., 2006). Além disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou esse transtorno como a sétima entre as doenças debilitantes no ano de 2000 (MORSELLI et al., 2004). No sistema de saúde privado da Inglaterra, o TAB é, atualmente, o problema mental mais oneroso quando comparado com outros transtornos mentais (WU et al., 2013).

Kraepelin forneceu os limites do que atualmente se considera o espectro bipolar, ao dicotomizar as psicoses endógenas em “*dementia praecox*” e “psicose maníaco-depressiva”. Em 1913, na oitava edição de seu tratado, Kraepelin colocou virtualmente todas as formas de melancolia pertencendo à “doença maníaco-depressiva”. O reconhecimento dos estados mistos foi uma importante contribuição para embasar a ligação das duas fases da doença. Entretanto, o conceito unitário kraepeliniano foi desafiado, sendo sua ideologia aceita até 1966, quando foram publicados os trabalhos de Angst e Perris, independentemente, apoiando a diferenciação entre transtornos unipolares e bipolares. Em 1980, o termo desordem bipolar foi adotada pelo Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) para substituir o termo psicose maníaco-depressiva (CAMPOS et al., 2010).

O DSM-IV (4ª edição) contém quatro principais subtipos do Transtorno Bipolar: Transtorno Bipolar tipo I (episódios depressivos e pelo menos um episódio de mania); Transtorno bipolar tipo II (vários episódios prolongados de depressão e, pelo menos, um episódio de hipomania, mas sem episódios maníacos); ciclotimia (muitos períodos de hipomania e sintomas depressivos, em que os sintomas depressivos não atendem aos critérios para episódios depressivos) a transtorno bipolar não especificado (Figura 1) (PHILLIPS & KUPFER, 2013).

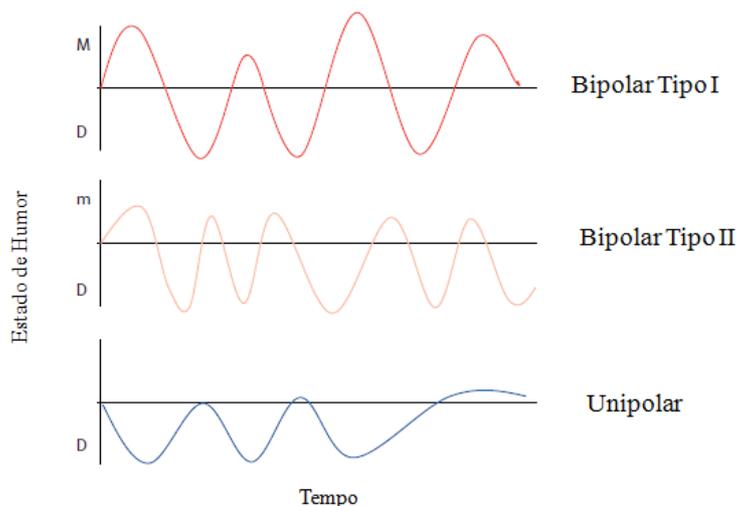


Figura 1 – Mudanças de humor ao longo do tempo no transtorno bipolar I, transtorno bipolar II e depressão unipolar. (PHILLIPS & KUPFER, 2013)

M = Mania; m = Hipomania; D = Depressão

Os episódios de mania cursam com sintomas de humor irritável, ativação psicomotora, redução da necessidade de sono, envolvimento excessivo com comportamentos potencialmente problemáticos (EL-MALLAKH et al., 2003), além de hipersexualidade, fuga de ideias, hiperatividade e comportamentos compulsivos (YOUNG et al., 2007), gerando impacto significativo na qualidade vida dos pacientes, além de grande carga para família e sociedade em geral (CUNHA et al., 2008). Além disso, o déficit cognitivo no TAB tem sido o foco de intensa investigação e estudos têm sugerido baixa funcionalidade e incapacidade nos pacientes bipolares, mesmo quando estão em remissão clínica (DODD et al., 2013; BERK et al., 2011; SANCHEZ-MORENO et al., 2009)

O TAB é associado, ainda, com altas taxas de morbidade e mortalidade devido às comorbidades clínicas gerais, particularmente as doenças cardiovasculares, além da obesidade, hipertensão, dislipidemia e diabetes *mellitus* (MCINTYRE et al., 2007; GOMES et al., 2013) além do alto índice de suicídio, podendo chegar a mais de 15% da amostra avaliada (CIULLA et al., 2013; ANTYPA et al., 2013).

Atualmente, a terapia farmacológica do TAB baseia-se nos agentes estabilizadores de humor como lítio, valproato, carbamazepina e mais recentemente em agentes anticonvulsivantes como a lamotrigina (BOURIN & PRICA, 2007). O lítio e valproato são considerados agentes de primeira linha para tratamento do TAB, sendo utilizados não apenas nos casos agudos de mania, mas como profiláticos para os

episódios maníacos e depressivos, além de reduzir o risco de suicídio (WU et al., 2013; CHIU et al., 2013). Ainda depois de 50 anos, o lítio é um tratamento extremamente importante para esse transtorno. Nas últimas décadas, o conhecimento sobre os mecanismos subjacentes a seus efeitos terapêuticos tem aumentado, destacando-se seu papel na estabilização das atividades neuronais e na promoção da neuroplasticidade e neuroproteção (CHIU et al., 2013), além da redução de estresse oxidativo demonstrada em modelos animais de mania (MACÊDO et al., 2012).

Entretanto, observa-se baixa resposta dos pacientes à terapia farmacológica. Cerca de 40-50% dos pacientes bipolares apresentam recaídas em um prazo de dois anos de tratamento com lítio. Os efeitos colaterais desse fármaco prejudicam a adesão dos pacientes ao tratamento e é necessário um acompanhamento com exames laboratoriais devido ao risco de toxicidade, o que limita o uso desse fármaco, principalmente nos casos graves de mania. Os efeitos colaterais mais frequentes, que acometem mais de 10% dos pacientes são diarreia, poliúria, tremor e ganho de peso (LICHT et al., 2012).

1.1.1 Etiologia e Fisiopatologia

Apesar dos esforços, a fisiopatologia do TAB ainda permanece elusiva. Entretanto, evidências crescentes sugerem uma interação complexa entre suscetibilidade genética, estressores ambientais e alterações de mecanismos bioquímicos, havendo participação, principalmente, de mecanismos pró-oxidantes, alterações neuroinflamatórias e na neuroplasticidade. Estudos destacam, ainda, a presença de toxicidade sistêmica como uma dimensão integrante da fisiopatologia desse transtorno, possivelmente ligando o TAB a algumas comorbidades, principalmente cardiovasculares (BERK et al. 2011; PFAFFENSELLER et al., 2013).

1.1.1.1 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo é um processo que ocorre quando há um desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e a produção de radicais livres no organismo. O estresse oxidativo vem sendo avaliado em uma série de doenças, incluindo transtornos neuropsiquiátricos e tem sido mostrado a sua participação na fisiopatologia desses

transtornos (HAMAI et al., 2006; JUNG et al., 2007; BERCK et al., 2011; LIU et al., 2012).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são pequenos metabólitos moleculares do oxigênio que participam de reações redox através de sua alta reatividade. A geração de radicais livres é resultante do metabolismo de oxigênio, sendo a mitocôndria, por meio da cadeia transportadora de elétrons, sua principal fonte geradora. Muitas dessas espécies são geradas em baixos níveis durante condições fisiológicas normais, em resposta a estímulos internos e externos (BARBOSA et al., 2010; BERRA et al., 2006).

Por outro lado, o organismo humano se dispõe de mecanismos antioxidantes com o objetivo de equilibrar a produção desses radicais. Um dos principais mecanismos antioxidantes endógenos é a enzima superóxido dismutase (SOD), que catalisa o O_2 (oxigênio) em H_2O_2 (peróxido de hidrogênio). Também relacionadas ao metabolismo de H_2O_2 encontram-se a Catalase e a Glutathione peroxidase (GPx), juntamente com a glutathione reduzida (GSH) (LAMBETH et al., 2008). Durante os processos metabólicos, os radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas. Sua produção, em proporções adequadas, possibilita a geração de ATP (energia), por meio da cadeia transportadora de elétrons, fertilização do óvulo, ativação de genes e participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção. Entretanto, o desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante caracteriza o processo de estresse oxidativo que, potencialmente, leva ao dano celular. Ou seja, a diminuição dos agentes antioxidantes ou um aumento da produção de pró-oxidantes resulta em um estado de estresse oxidativo, o que causa danos a macromoléculas celulares, tais como lípidos, proteínas (receptores e enzimas), carboidratos e DNA (BARBOSA et al., 2010; MATÉS & SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, 1999).

O SNC é particularmente vulnerável a danos oxidativos, devido ao elevado consumo de oxigênio e, portanto, a geração de EROs, e também devido à capacidade antioxidante relativamente baixa desta estrutura. Além disso, o cérebro contém níveis elevados de ferro que podem estar associados com injúrias causadas por esses radicais. O aumento dos níveis de oxidação neuronal pode ter efeitos deletérios sobre a transdução de sinal, plasticidade e resiliência celular (OLMEZ & OZYURT, 2012; KHAIROVA et al., 2012).

A GSH é o principal antioxidante não protéico intracelular e regulador redox, agindo como co-fator da enzima GPx (Figura 2). Oxidantes, como H_2O_2 e outros

peróxidos que são gerados durante o metabolismo aeróbico são reduzidos através do ciclo redox, que é catalisado pela GPx e glutatona redutase (GR). A enzima GPx reduz peróxidos produzindo água e a forma oxidada da GSH [glutationa dissulfeto (GSSG)]. Para completar o ciclo, a enzima GR reduz a molécula de GSSG à sua forma reduzida em uma reação de oxidação da molécula de fosfato de dinucleótido de nicotinamida adenina (NADPH) (KULAK et al., 2013). Esse composto é importante para a proteção celular contra danos por oxidação causados por EROs, espécies reativas de nitrogênio e para a neutralização de toxinas e metabólitos reativos. Além disso, a GSH é indispensável para a manutenção do estado redox de tiol, o qual modula processos redox-sensíveis, tais como a regulação do ciclo celular e diferenciação celular, a ativação de receptores, transdução de sinal e a ligação de fatores de transcrição para o DNA. O déficit de GSH pode resultar em estresse oxidativo e, subsequentemente, alteração de processos biológicos, resultando em anormalidades no desenvolvimento e função cerebral (KULAK et al., 2013).

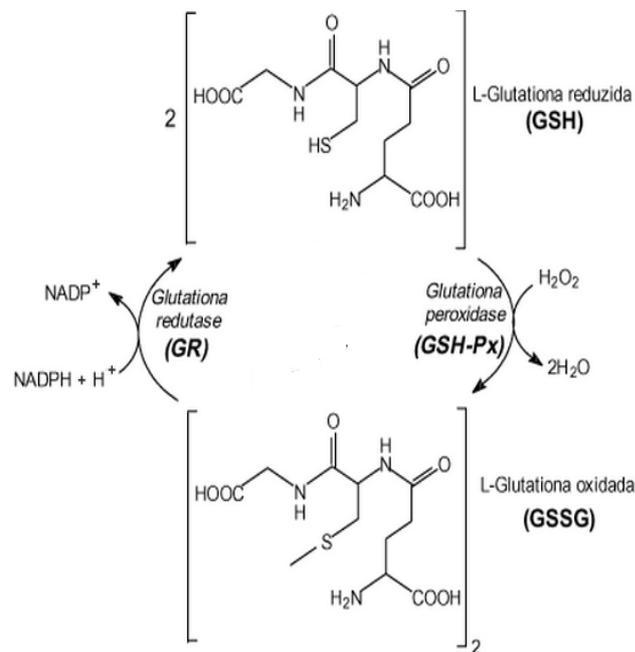


Figura 2 – Ciclo redox da molécula de glutatona. Interconversão de glutatona nas suas formas reduzida e oxidada pela ação das enzimas glutatona peroxidase e glutatona redutase (ROVER JUNIOR et al., 2001).

A geração de EROs resulta em ataque não somente sobre o DNA, mas também sobre outros componentes celulares. A reação de EROs com ácidos graxos polinsaturados presentes nas membranas celulares e lipoproteínas iniciam um processo em cadeia conhecido como peroxidação lipídica. Esse processo leva à formação de radicais L•, LO• e LOO•, levando à destruição da estrutura lipídica, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e, numa condição extrema, à morte celular. A peroxidação lipídica das nas membranas levam a alterações da permeabilidade celular, levando à disfunção do fluxo iônico e o fluxo de outras substâncias, o que resulta na perda da seletividade para entrada e/ou saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula, até alterações do DNA. (LIMA & ABDALA, 2001).

O processo de peroxidação lipídica pode ser avaliado e utilizado como um indicador do estresse oxidativo celular (Figura 3). A partir dele são formados produtos secundários como alcanos, aldeídos e isoprostanos, sendo esses utilizados para avaliar o grau de oxidação do material biológico. Dentre os marcadores biológicos mais utilizados, encontra-se o malonaldeído, pertencente à classe de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (DEVASAGAYAM et al., 2003).

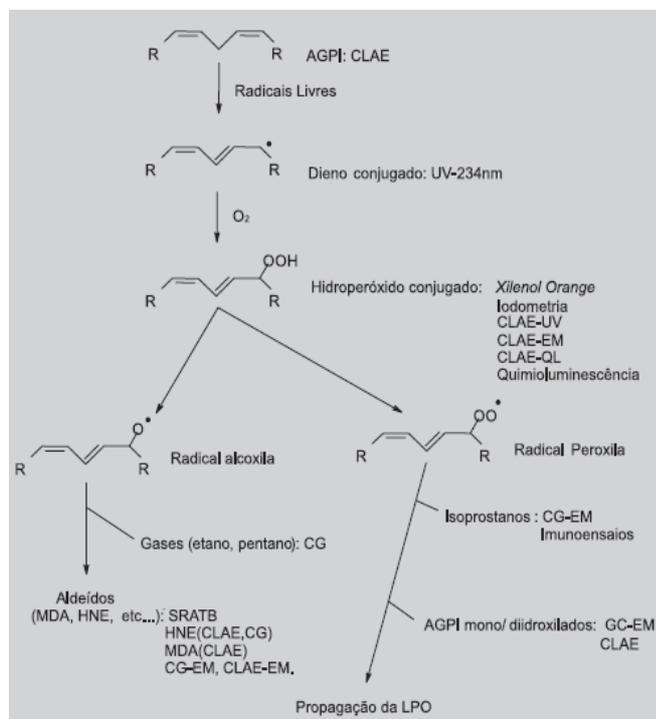


Figura 3 - Principais reações ocorridas durante o processo de peroxidação lipídica. Os radicais livres, ao reagirem com ácidos graxos presentes nas membranas celulares, levam à formação de subprodutos que podem ser quantificados através de análises bioquímicas (LIMA & ABDALA; 2001)

Uma série de estudos clínicos tem demonstrado a presença de alterações sistêmicas em diversos parâmetros de estresse oxidativo e enzimas antioxidantes em pacientes com TAB. Nesse contexto, Andrezza e colaboradores (2007) relataram que a atividade da SOD está aumentada durante as fases de mania e de depressão, mas não na eutímia. Além disso, esses autores observaram que os níveis séricos de TBARS estavam aumentados nesses pacientes, independentemente da fase. Mais tarde, esses dados foram confirmados pelo estudo de Kunz e colaboradores (2008) que também relataram aumento da atividade da SOD nas fases agudas do TAB, mas não durante a eutímia. Entretanto, nesse estudo os níveis de TBARS se mostraram ainda mais aumentados na fase aguda de mania. Um estudo *postmortem* realizado recentemente mostrou, ainda, que o nível pré-frontal de GSH estava reduzido em pacientes com esquizofrenia, TAB e depressão quando comparado com controles saudáveis (GAWRYLUK et al., 2011).

Evidências pré-clínicas também têm demonstrado o envolvimento do estresse oxidativo em modelos animais de mania e depressão. Por exemplo, animais *knockout* para síntese de GSH, apresentando insuficiência na produção desse composto, exibiram hiperlocomção no teste de campo aberto e foi proposto como modelo animal de mania e esquizofrenia (KULAK et al., 2012). Frey e colaboradores (2006c) propuseram um modelo animal de mania induzido por AMPH e mostraram o envolvimento do estresse oxidativo nesses animais. Nesse estudo, os animais foram tratados com lítio e valproato e ambos os fármacos reverteram e preveniram o aumento da peroxidação lipídica induzida pela AMPH. Em outro estudo realizado recentemente com o mesmo modelo animal foi verificado, ainda, alterações em outros parâmetros de estresse oxidativo, como redução de GSH e SOD. Da mesma forma, o lítio teve efeito positivo na prevenção e reversão dessas alterações (MACÊDO et al., 2012).

Adicionalmente, estudos clínicos e pré-clínicos têm sugerido um benefício de compostos antioxidantes como adjuvantes no tratamento do TAB. A N-acetilcisteína, por exemplo, tem se mostrado segura em ensaios clínicos randomizados como adjuvante de estabilizadores de humor. Os dados pré-clínicos também sugerem efeitos antimaniacos e antidepressivos de compostos antioxidantes, reforçando a ideia da forte participação do estresse oxidativo na fisiopatologia do TAB (MAGALHÃES et al., 2011; MACÊDO et al., 2012; MANOSSO et al., 2013).

1.1.1.2 Neuroplasticidade

Mudanças na neuroplasticidade, em nível tanto celular quanto molecular geram mudanças nos circuitos neuronais a nível sistêmico (HAYLEY & LITTELJOHN, 2013). O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) participa de uma variedade de processos durante o desenvolvimento neural de animais e seres humanos. Inicialmente, essa neurotrofina é importante para a neurogênese, diferenciação e sobrevivência neuronal e é altamente expressa em áreas do cérebro que são conhecidas por regular comportamentos cognitivo e emocional, como o hipocampo e amígdala. No adulto, o BDNF é importante não só para a plasticidade sináptica e crescimento dendrítico, mas também para consolidação da memória de longo prazo (STRAKOWSKI et al., 2005; POST, 2007). Juntamente com outros fatores biológicos, tais como neurotransmissores, hormônios e outras neurotrofinas, o BDNF orquestra mecanismos de plasticidade e sobrevivência neuronal (GRANDE et al., 2010).

Existe um crescente corpo de evidências indicando que o BDNF desempenha um papel importante na fisiopatologia do TAB. Entretanto, alguns dados parecem conflitantes no que concerne aos níveis séricos dessa neurotrofina nos pacientes com TAB. A maioria dos estudos mostra que, nos episódios agudos da doença, principalmente na mania, mas também na depressão, ocorre redução dos níveis séricos de BDNF (CUNHA et al., 2006; MACKIN et al., 2007; KAUER-SANT'ANNA et al., 2009). Além disso, um estudo de meta-análise mostrou que os níveis de BDNF diminuem durante os episódios agudos e que essa neurotrofina está negativamente correlacionada com a gravidade dos sintomas de humor (FERNANDES et al., 2011). Entretanto, Barbosa e colaboradores (2013) verificaram, recentemente, um aumento dos níveis de BDNF em pacientes com longo período de diagnóstico do TAB. Segundo os autores, esse resultado conflitante pode ser reflexo da reação do organismo ao dano cerebral nos estágios precoces da doença ou em resposta à terapia com estabilizadores de humor, como o lítio e valproato (BARBOSA et al., 2013).

Nos modelos animais de mania também são observadas alterações nos níveis dessa neurotrofina. Verifica-se a redução do BDNF em áreas cerebrais como hipocampo, amígdala e córtex cerebral e essa redução é revertida e/ou prevenida por estabilizadores de humor, como lítio e valproato (FUKUMOTO et al., 2001; FREY et al., 2006a; JORNADA et al., 2010; MACÊDO et al., 2012).

Acredita-se que essa neurotrofina possa mediar efeitos do estresse psicossocial do TAB e a disfunção cognitiva comumente relacionada a episódios afetivos repetidos (BERK et al., 2011; GRANDE et al., 2010) e, além disso, evidências recentes sugerem que o BDNF pode ser um potencial biomarcador para esse transtorno (PFAFFENSELLER et al., 2013).

A glicogênio sintase quinase-3 β (GSK-3 β) é uma proteína quinase originalmente identificada e nomeada devido à sua habilidade de fosforilar e inativar a enzima metabólica glicogênio sintase (EMBI et al., 1980). Posteriormente, a GSK-3 β foi identificada como uma enzima capaz de modular diversos aspectos da função neural. É considerada elemento essencial da via Wnt/ β -catenina, via envolvida no controle da expressão gênica, no comportamento, adesão e polaridade celular, além de ter papel importante no desenvolvimento neuropsicomotor e regulação da polaridade, plasticidade e sobrevivência neuronal (GRIMES & JOPE, 2001).

A GSK-3 β é constitutivamente ativa e regula a atividade de muitos alvos, incluindo fatores de transcrição, enzimas e proteínas do citoesqueleto, sendo considerada reguladora primária de uma variedade de processos celulares, incluindo a diferenciação, crescimento, motilidade e apoptose. O aumento da atividade dessa proteína aumenta o processo apoptótico em células neuronais, enquanto sua inibição gera efeitos neuroprotetores (BENEDETTI et al., 2013). Ela é abundantemente expressa em diversas áreas cerebrais, incluindo hipocampo, córtex cerebral e corpo estriado, regiões envolvidas na regulação do humor (YAO et al. 2002). De fato, estudos comportamentais em roedores sugerem que a GSK-3 β é uma proteína que regula diversos comportamentos relacionados ao humor, sendo seu estado de fosforilação/atividade considerado mecanismo importante para a ação da serotonina (5-HT) e dopamina (DA), influenciando o comportamento (BEAULIEU et al., 2008).

Atualmente, reconhece-se que a GSK-3 β é um dos mediadores envolvidos no complexo mecanismo de ação do lítio como estabilizador de humor. De fato, foi verificado comportamento tipo-mania em camundongos transgênicos que apresentavam superexpressão dessa proteína, sendo observado, nesses animais, hiperlocomoção e redução do tempo de imobilidade no teste de nado forçado (PRICKAERTS et al., 2006). O lítio leva à inibição dessa proteína diretamente, por competir com o magnésio e, indiretamente, por induzir várias quinases e fosfatases, controlando a fosforilação da GSK-3 β serina (9), mantendo-a inativa. Estes mecanismos indicam um papel fundamental nos efeitos neuroprotetores do lítio e pode ser parte essencial do

mecanismo de sua ação terapêutica no TAB, corrigindo uma possível diminuição da plasticidade e resiliência celular (BENEDETTI et al., 2013). Outra explicação para a relevância dessa proteína na estabilização do humor deve-se à sua relação com o BDNF. Essa neurotrofina ativa a proteína serina/treonina quinase (Akt), mediador que fosforila a serina (9) N-terminal da GSK, resultando na sua inativação (MAI et al., 2002).

1.1.1.3 Neuroinflamação

Durante um longo período, o cérebro foi considerado como um órgão isolado do resto do corpo e sem contato com as células e os mediadores inflamatórios, estando protegido pela barreira hematoencefálica (GOSSELIN & RIVEST, 2007). Entretanto, os resultados de diversos estudos recentes demonstraram que o sistema nervoso central (SNC), não só é capaz de gerar processos imunes, mas, reciprocamente, pode ser influenciado por eles (SCHIEPERS et al., 2005; MARQUES et al., 2007). Uma série de evidências aponta para o papel de mediadores inflamatórios e a desregulação imune na patogênese de transtornos neuropsiquiátricos, tais como esquizofrenia (NA et al., 2012), depressão (KRISHNADAS & CAVANAGH, 2012) e Doença de Alzheimer (OBULESU & JHANSILAKSHMI, 2013). Mais recentemente, evidências científicas recentes passaram a sugerir que a inflamação e as alterações na resposta imune exercem importante papel também na patogenia do TAB (REGE & HODGKINSON, 2013) o que, possivelmente, liga esse transtorno ao risco aumentado de desenvolver comorbidades médicas, incluindo doenças cardiovasculares, síndrome metabólica e diabetes (PFAFFENSELLER et al., 2013).

As citocinas são proteínas secretadas pelas células imunes em resposta a uma variedade de estímulos nocivos. Esses mediadores inflamatórios funcionam como coordenadores importantes da resposta imune inata e adaptativa e são capazes de regular várias funções celulares tais como a proliferação, sobrevivência e maturação (BRIETZKE & KAPCZINSKI, 2008). O aumento de citocinas pró-inflamatórias nos pacientes com TAB já está bem documentado e apontam para um aumento dos níveis periféricos de IL-6 e TNF- α durante episódios depressivos e de IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 e TNF- α na mania, quando comparado com pacientes eutímicos e controles saudáveis. (BRIETZKE & KAPCZINSKI, 2008; KAUER-SANT'ANNA et al., 2009; BRIETZKE et al., 2011; PFAFFENSELLER et al., 2013). Apesar de benéficas em condições fisiológicas, a ativação excessiva e/ou prolongada das citocinas pode levar à diminuição

do suporte neurotrófico, redução da neurogênese, além do aumento da ativação glutamatérgica, do estresse oxidativo e indução de apoptose em tipos celulares importantes (por exemplo, astrócitos e oligodendrócitos) (Figura 4) (TILLEUX & HERMANS, 2007; KOO & DUMAN, 2008).

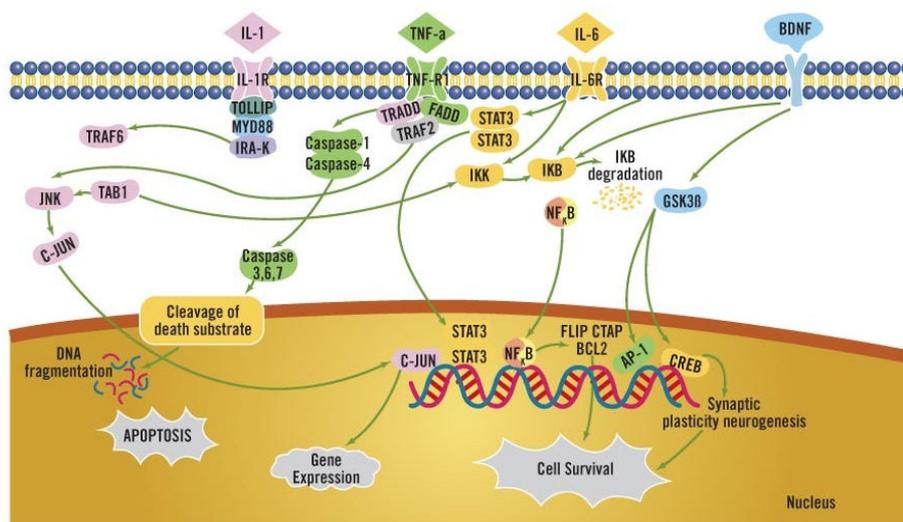


Figura 4 – Vias envolvidas na sinalização das citocinas. A ativação de receptores para citocinas pró-inflamatórias pode levar à diminuição do suporte neurotrófico, redução da neurogênese, aumento da ativação glutamatérgica, do estresse oxidativo e de processos apoptóticos (BRIETZKE et al., 2011).

Evidências mostram que ocorre um aumento nos níveis séricos do fator de necrose tumoral (TNF- α) durante episódios maníacos e depressivos, especialmente na mania (KIM et al., 2007). Brietzke e Kapczinski (2008) sugerem que principalmente o TNF- α pode desempenhar um papel fundamental no processo de disfunção imune do TAB, por essa citocina regular processos apoptóticos que podem, por sua vez, estar relacionados com a perda neuronal e glial observada nesse transtorno.

A Proteína C Reativa (PCR), um indicador extremamente sensível para inflamação, é considerada um marcador inflamatório validado em patologias em que o sistema imunológico está envolvido, além de ser usada como preditor de risco cardiovascular (SUGANO et al., 2005). Cunha e colaboradores (2008), ao avaliarem as alterações dessa proteína nas diferentes fases do TAB, encontraram níveis aumentados de PCR nos pacientes que se encontravam na fase de mania quando comparados aos

pacientes na fase depressiva, eutímicos e controles saudáveis, mais uma vez sugerindo o envolvimento do sistema imunológico na fisiopatologia do TAB.

As quimiocinas, ou citocinas quimiotáticas, são pequenas proteínas, classicamente definidas pela capacidade de dirigir os leucócitos circulantes para sítios de inflamação ou lesão. Um estudo recente mostrou alteração nos níveis séricos de quimiocinas, incluindo aumento de CCL11 e CXCL10 e redução de CXCL8 em pacientes bipolares em diferentes estados de humor quando comparado a controles saudáveis (BARBOSA et al., 2013). Os estudos relacionados com o aumento de quimiocinas em pacientes com TAB ainda são restritos, porém, esse novo achado reforça a visão de que o TAB está associado a uma disfunção imunológica (BRIETZKE et al., 2009; BARBOSA et al., 2013).

É notável a existência de crescentes e fortes evidências apoiando a participação de mecanismos inflamatórios no TAB o que abre novos caminhos para a investigação do uso de medicamentos imunomoduladores para o tratamento desse transtorno.

1.1.1.4 Disfunção mitocondrial

Nos últimos anos, a idéia de que a disfunção mitocondrial desempenha papel importante no TAB tem se tornado cada vez mais fundamentada. As alterações na forma e distribuição das mitocôndrias podem ser uma das causas subjacentes para a disfunção energética no TAB, como mostrado no córtex pré-frontal do cérebro *post-mortem* e nas células periféricas de pacientes com TAB (CATALDO et al., 2010). O papel da disfunção mitocondrial nesse transtorno é ainda mais respaldada a partir de estudos que mostraram que os estabilizadores de humor e antidepressivos podem melhorar a função mitocondrial de pacientes bipolares (VALVASSORI et al., 2010; MANJI et al., 2012).

O prejuízo da função mitocondrial pode levar a alterações em processos celulares importantes, pois ela é a interseção de várias vias que regulam a plasticidade sináptica e a resiliência celular, como a regulação do cálcio intracelular, da produção de ATP e EROs e regulação de vias anti e pró-apoptóticas. Alterações nessas vias podem contribuir para as mudanças atroficas que estão subjacentes à deterioração de longa duração no curso de doenças como o TAB (MANJI et al., 2012).

Estudos sugerem que a disfunção mitocondrial em pacientes com TAB são induzidas e estimuladas pelo estresse crônico e, como consequência, essa disfunção leva a um prejuízo da capacidade de resistência celular aos estímulos ambientais e, em

última análise, à ativação de caspases e ocorrência de apoptose. Essas células mortas podem acabar liberando moléculas imunoestimulatórias e, portanto, induzindo alterações nos marcadores inflamatórios. Estas alterações podem ser, então, responsáveis pelos efeitos nocivos sobre as células periféricas, podendo induzir apoptose e completando um ciclo vicioso de toxicidade periférica e reduzida capacidade de resistência celular (PFAFFENSELLER et al., 2013).

1.2 Neuroprogressão do TAB

O termo “neuroprogressão” é utilizado para definir a reorganização patológica do sistema nervoso central (SNC) ao longo do curso de graves transtornos mentais (BERK et al., 2011). Muitos indivíduos com depressão maior, esquizofrenia e TAB demonstram características da doença que são consistentes com a neuroprogressão. Estas características incluem mudanças estruturais progressivas no cérebro, como redução do volume cerebral, declínios cognitivos e funcionais, baixa resposta ao tratamento e crescente vulnerabilidade à recaída com a cronicidade da doença (DODD et al., 2013).

No TAB, acredita-se que os mecanismos moleculares subjacentes ao processo de neuroprogressão é mediado, pelo menos parcialmente, por processo inflamatório, estresse oxidativo, apoptose, disfunção mitocondrial, alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, na neuroplasticidade, neurotransmissão e neurogênese (KAPCZINSKI et al., 2008; BERK et al., 2013; DODD et al., 2013).

Reconhece-se que a maioria dos pacientes com TAB apresentam comprometimento cognitivo, mesmo durante períodos de remissão dos episódios maníacos e depressivos. O déficit cognitivo e os sintomas de alteração do humor são os mais importantes contribuintes para o declínio funcional e incapacidade observados nos pacientes com esse transtorno (SANCHEZ-MORENO et al., 2009). A neuroprogressão e o estadiamento desse transtorno podem ter importantes implicações clínicas, já que as fases precoce e tardia da doença parecem apresentar diferentes características biológicas e, portanto, podem exigir diferentes estratégias de tratamento (KAPCZINSKI et al., 2009).

Esse prejuízo cognitivo dos pacientes com TAB está associado a uma deterioração na qualidade de vida e a um pior prognóstico da patologia. O lítio, estabilizador de humor que apresenta melhores resultados terapêuticos, não parece

auxiliar nesse declínio cognitivo apresentado pelos pacientes (MORA et al., 2013). Diante dessas evidências, estudos recentes têm sugerido diversas abordagens terapêuticas, a maioria ainda não confirmada em estudos pré-clínicos, com o objetivo de tentar reduzir a deficiência associada à progressão da doença, principalmente referente ao prejuízo cognitivo apresentado por grande parte dos pacientes (DODD et al., 2013; BERK et al., 2011).

1.3 Sistema Renina-Angiotensina

O sistema renina-angiotensina (SRA) é responsável por preservar o volume de fluido do organismo durante períodos de restrição de sal na dieta e também evitar a ocorrência de eventos isquêmicos durante a perda aguda de volume, além de induzir vasoconstrição e ativação simpática (RUILOPE et al., 2005). A renina, sintetizada nas células justaglomerulares do rim, cliva o angiotensinogênio, um peptídeo inativo, em angiotensina I. Esta última é convertida em Angiotensina II (Ang II) pela enzima conversora da angiotensina (ECA), secretada por células do endotélio pulmonar e renal (DE GASPARO et al., 2000).

O principal peptídeo efetor do SRA é a Ang II que atua via dois subtipos de receptor, AT1 (AT1R) e AT2 (AT2R). A ativação dos AT1Rs resulta em vasoconstrição, secreção de aldosterona e vasopressina, retenção de sódio e diminuição da perfusão renal. Assim, estes receptores medeiam os efeitos deletérios da Ang II, incluindo a elevação da pressão arterial e remodelamentos cardíaco e vascular (UNGER, 2008). Já os efeitos dos AT2Rs ainda não estão claramente definidos, no entanto, sabe-se que esse receptor é expresso significativamente durante a fase precoce do desenvolvimento do organismo, declinando na idade adulta. Adicionalmente, reconhece-se que esses receptores possam apresentar ações opostas aos AT1R, mediando vários efeitos antiproliferativos e anti-inflamatórios, além de promover a diferenciação e regeneração tecidual (STECKELINGS et al., 2005; CAT & TOUYZ, 2011).

Na última década, foram identificados alguns componentes adicionais do SRA, incluindo peptídeos bioativos da angiotensina, como a angiotensina III, IV, e angiotensina-(1-7), cujos efeitos ainda não foram totalmente esclarecidos para os sistemas nervoso, cardiovascular e renal (GARD, 2008; YUGANDHAR & CLARK, 2013; GIRONACCI et al., 2013).

1.3.1 Sistema Renina-Angiotensina e Transtorno Afetivo Bipolar

A Ang II circulante periféricamente não atravessa a barreira hemato-encefálica, sendo a comunicação entre o SRA periférico e o SNC estabelecida através de órgãos circumventriculares, localizados no exterior da barreira hematoencefálica, via receptores AT1 (CAT & TOUYZ, 2011). Entretanto, muitos tecidos, incluindo o cérebro, contêm SRA local, onde sua atividade seja, talvez, mais importante do que a do SRA circulante (SAAVEDRA, 1992; BADER, 2010). No cérebro, o AT1R está amplamente distribuído em regiões como órgão subfornical, núcleo paraventricular, núcleo do trato solitário, eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e amígdala, regiões envolvidas no comportamento e controle da resposta do organismo ao estresse (LIU et al., 2012).

Ainda no cérebro, a ativação de AT1Rs contribui para a regulação fisiológica de muitas funções distintas, incluindo o controle da circulação cerebral, da atividade simpática central, integridade da barreira hemato-encefálica, produção e liberação hormonal, resposta do organismo ao estresse, regulação da resposta imune inata cerebral, além de ter papel importante na regulação do comportamento e cognição (SAAVEDRA et al., 2013). A atividade excessiva dos AT1Rs no cérebro está associada ao aumento da resposta simpática e hormonal ao estresse, maior vulnerabilidade à isquemia cerebral e inflamação do cérebro, levando à lesão neuronal (SAAVEDRA et al., 2011).

Atualmente, sabe-se que Ang II tem um papel importante não somente na HAS, mas também em transtornos de ansiedade e humor (LIU et al., 2012). O SRA cerebral tem sido relacionado com transtornos neuropsiquiátricos como a depressão (NASR et al., 2011), doença de Alzheimer (DAVIES et al., 2011) e de Parkinson (JOGLAR et al., 2009). Saavadera (2013), propôs que fármacos bloqueadores de receptores de angiotensina (ARBs) apresentam grande potencial para tratar algumas condições cujo tratamento ainda não é ideal, como transtornos do humor, doenças neurodegenerativas e isquemia cerebral. Queiroz e colaboradores (2013), assim como Liu et al. (2012), propõem a ligação entre o SRA e transtornos de humor, como ansiedade e TAB e sugerem uma nova abordagem terapêutica para o TAB baseada no uso de antagonistas do receptor para Ang II.

A expressão da ECA é influenciada por um polimorfismo de inserção/deleção (I/D) que leva à presença ou ausência de fragmentos de 250 pares de base. Como consequência, indivíduos com genótipo homozigoto DD apresentam maior atividade da

ECA, enquanto aqueles com genótipo homozigoto II mostram diminuição da atividade dessa enzima, o que leva a alterações no funcionamento do SRA. Os estudos ainda são escassos, porém já foram relatadas associações significativas entre o alelo DD e transtornos de humor, como depressão e TAB (CASTELLON & HAMDI, 2007), maior risco de comportamento suicida (SPARKS et al., 2009), além de maior ocorrência de sintomas psicóticos em pacientes esquizofrênicos e bipolares (KUCUKALI et al., 2010; ZOU et al., 2011). Em um estudo realizado com pacientes depressivos, foi mostrado aumento da expressão de AT1Rs, o que também leva ao aumento da resposta à Ang II (SAAB et al., 2007). Enfim, esses dados sugerem que alterações no SRA podem contribuir para a maior suscetibilidade a transtornos afetivos.

A Ang II possui alguns efeitos onde se destacam algumas vias pelas quais o SRA pode se relacionar com transtornos de humor (Figura 5). A primeira delas é o estresse oxidativo, pois sabe-se que a Ang II é um potente mediador de estresse oxidativo e sinalização oxidante. Os AT1Rs medeiam a ativação da enzima NAD(P)H oxidase (NOX), levando à geração de EROs. Essa enzima produz EROs como subproduto natural do metabolismo do oxigênio e possui importante papel na sinalização celular normal, como a modificação oxidativa de proteínas ou DNA. Porém, sob condições de atividade enzimática excessiva da ECA ou ativação contínua dos AT1Rs pela Ang II, a geração de EROs pode exceder a capacidade antioxidante endógena, levando a efeitos deletérios (LIU et al., 2012). Vale ressaltar que a formação de EROs via NOX tem sido relacionada com a fisiopatologia de transtornos, como ansiedade e depressão (GARD et al., 2004). Em modelos animais, o bloqueio de AT1Rs reduziu a peroxidação lipídica, além de ter restaurado os níveis de GSH em modelo de isquemia cerebral (OZACMAK et al., 2007).

Além disso, sabe-se que a Ang II pode induzir estresse oxidativo através da estimulação vascular para produção de superóxido e observa-se que, na hipertensão, ocorre declínio da função mitocondrial em órgãos como o cérebro, fígado e coração. Em um estudo realizado com ratos espontaneamente hipertensos (SHR), foi avaliado se o tratamento de candesartana poderia reverter alterações na função mitocondrial no rim impostas pela pressão arterial elevada. Observou-se que a função mitocondrial foi preservada nos animais SHR o que, provavelmente, favoreceu a manutenção das funções celular e tecidual adequadas nesse órgão, tendo efeito protetor sobre o rim (DE CAVANAGH et al., 2005).

Adicionalmente, a ativação de AT1Rs leva à inibição do sistema anti-inflamatório PPAR γ (Receptor ativado por proliferador de peroxissomo gama) e ao aumento da ativação de cascatas inflamatórias intracelulares, pela ativação, por exemplo do fator de transcrição NFkB (Fator Nuclear kapa B). O resultado é a produção de prostaglandinas, como a prostaglandina E2 (PGE2), óxido nítrico (NO), citocinas pró-inflamatórias, moléculas de adesão e aumento do estresse oxidativo. Fatores pró-inflamatórios são liberados, então, no parênquima cerebral, o que leva à ativação da micróglia e astrócitos e consequente produção adicional de mediadores inflamatórios nesse órgão. Além disso, a ruptura da barreira hemato-encefálica permite infiltração de macrófagos no parênquima cerebral, aumentando ainda mais a inflamação. A combinação desses fatores resulta em lesão neuronal e, quando não controlada adequadamente, a relação contínua entre inflamação periférica e central leva a respostas inflamatórias crônicas e dano celular permanente (SAAVEDRA, 2013). De fato, o uso de CDS em modelo animal de inflamação cerebral induzida por lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano teve efeito anti-inflamatório observado em toda a cascata inflamatória. Os autores avaliaram áreas cerebrais relacionadas com a emoção, cognição e memória, como córtex pré-frontal, hipocampo e amígdala e constataram supressão de mediadores inflamatórios e da ativação gênica nessas áreas (BENICKY et al., 2011).

Foi demonstrado, ainda, que a Ang II levou à redução da fosforilação do CREB (Proteína ligada ao fator de transcrição do AMP cíclico) e ao aumento da fosforilação do fator de transcrição NF-kB. Esses resultados foram acompanhados pelo aumento da ativação da GSK-3 β e da produção de citocinas pró-inflamatórias, TNF- α e IL-1 β (Interleucina 1 beta), além da diminuição da produção de citocinas anti-inflamatórias, IL-10 (Interleucina 10) (AGARWAL et al., 2013). O papel da Ang II sobre a neuroplasticidade também pode ser demonstrado em modelos animais, onde ratos espontaneamente hipertensos apresentaram aumento do nível de BDNF hipocampal quando tratados com um antagonista do receptor AT1 (KISHI et al., 2012), assim como em um modelo de isquemia cerebral (GUAN et al., 2011).

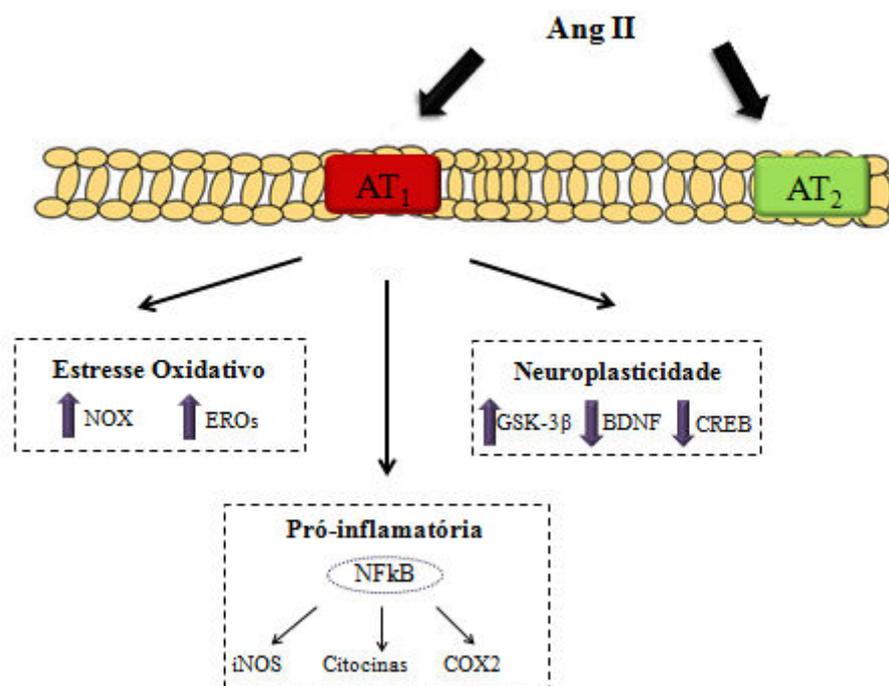


Figura 5 – Vias de sinalização da Angiotensina II. A ativação de receptores AT₁ pela Ang II leva a alterações em parâmetros de estresse oxidativo, inflamação e neuroplasticidade (Ang II = Angiotensina II; NOX = NAD(P)H oxidase; EROs = Espécies reativas de oxigênio; iNOS = Óxido nítrico sintase induzida; COX 2 = Cicloxigenase 2; GSK-3β = glicogênio sintase quinase-3β; BDNF = Fator neurotrófico derivado do cérebro).

Existem ainda alguns pontos que relacionam estresse, TAB e SRA. Conforme revisado por Pfaffenseller e colaboradores (2013), o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) é claramente alterado no TAB, resultando em alterações na síntese de cortisol em resposta ao estresse e na diminuição da capacidade do organismo de retornar aos níveis de repouso desse hormônio uma vez cessada a exposição ao estresse. Estes níveis elevados de cortisol podem ter importantes consequências em longo prazo. Por exemplo, estudos *in vitro* e com modelos animais mostraram que o estresse crônico e a exposição crônica aos glicocorticoides podem induzir disfunções mitocondriais, causando reduções no consumo de oxigênio, no potencial de membrana mitocondrial e na capacidade de retenção de cálcio, levando, finalmente à apoptose. Os glicocorticoides podem, ainda, agravar a inflamação e induzir toxicidade no SNC, tornando os neurônios menos capazes de remover o glutamato da fenda sináptica e eliminar EROs. Além disso, a toxicidade e danos neuronais podem ser gerados por um aumento sinérgico da inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial.

A inibição da atividade dos AT1Rs no cérebro pela administração sistêmica dos ARBs é neuroprotetora por reduzir as respostas exageradas ao estresse, o que favorece a proteção dos neurônios contra a injúria neuronal e contribui para aumentar o tempo de vida (SAAVEDRA et al., 2011). Essa participação dos receptores AT1 na regulação do estresse se deve, primeiramente, à sua localização. Esses receptores são altamente expressos ao longo de todo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e em áreas cerebrais que regulam a reação ao estresse. Em modelos animais, a indução de estresse por imobilização, contenção, isolamento ou inflamação aumenta a formação desses receptores nessas áreas do cérebro. A Ang II, pela ação sobre esses receptores, contribui para a estimulação das vias de estresse no cérebro, levando à maior ativação do eixo HPA, do fator liberador de corticotrofinas (CRF) pelo hipotálamo, aumento da liberação do hormônio adenocorticotrófico (ACTH) pela hipófise, da atividade simpática central e periférica e, conseqüentemente aumento das respostas ao estresse e ansiedade (SAAVEDRA et al., 2006; SAAVEDRA & PAVEL, 2005).

De fato, estudos pré-clínicos mostraram que os efeitos anti-estresse da CDS se correlacionam bem com a redução da ansiedade e da depressão em modelos animais. Os ARBs demonstraram ter uma potência semelhante ao de benzodiazepínicos em alguns testes para a ansiedade (SAAVEDRA et al., 2006) e efeito antidepressivo no teste de nado forçado (GARD et al., 1999). Os ARBs impedem que ocorra a característica ativação simpática periférica e central pelo estresse e praticamente abolem a ativação do eixo HPA em modelos animais de estresse. (PAVEL et al., 2008). Além disso, estudos clínicos demonstraram que o tratamento com ARBs não só melhora a qualidade de vida de pacientes hipertensos (WEBER, 2005), mas também diminui a ansiedade e a depressão em pacientes diabéticos (PAVLATOU et al., 2008). Com isso, além dos efeitos anti-hipertensivos dos ARBs, esses fármacos podem ser considerados para o tratamento de distúrbios relacionados com o estresse (PAVEL et al., 2008).

Essa relação entre estresse, TAB e SRA tem elevado valor translacional, uma vez que as evidências pré-clínicas apontam para relação entre a ativação desse sistema e o aumento do estresse (SAAVEDRA et al., 2011), além da participação do estresse no processo fisiopatológico do TAB (PFAFFENSELLER et al., 2013). Interessantemente, já foram relacionados polimorfismos que levam a alterações no funcionamento do SRA e doenças neuropsiquiátricas (CASTELLON & HAMDI, 2007; SAAB et al., 2007). Provavelmente, o bloqueio de AT1Rs poderia reduzir a resposta ao estresse nos

pacientes bipolares, reduzindo o glicocorticoide circulante e, conseqüentemente, a toxicidade e os danos neuronais inerentes à exposição prolongada a esse hormônio.

Juntas, todas essas evidências sustentam a hipótese da relação entre o SRA e o TAB e direcionam o estudo de drogas que agem sobre esse sistema no tratamento desse transtorno (QUEIROZ et al., 2013).

1.4 Modelos animais de mania

O desenvolvimento de modelos animais convincentes e úteis para o estudo de distúrbios neuropsiquiátricos representa um grande desafio para a ciência. Entretanto, apesar dos obstáculos, esses se fazem necessários para o conhecimento das alterações fisiopatológicas desses transtornos, bem como para a compreensão da eficácia e dos mecanismos de ação dos fármacos (NESTLER & HYMAN, 2010).

O avanço nos estudos sobre a fisiopatologia do TAB tem permitido uma maior compreensão sobre as alterações fisiológicas e comportamentais encontradas em pacientes bipolares e, conseqüentemente, o desenvolvimento de modelos animais. No entanto, ainda não existe nenhum modelo animal que mimetize integralmente esse transtorno, fato compreensível pelas dificuldades de reprodução dos quadros maníacos e da ciclagem entre os episódios depressivos e maníacos (MACHADO-VIEIRA et al., 2004). Portanto, a maneira encontrada para lidar com essa limitação foi desenvolver modelos animais de depressão (BECKER et al., 2008) e mania (EL-MALLAKH et al., 2003; FREY et al., 2006c) separadamente.

A hiperatividade é um sintoma determinante na mania e a característica definidora do TAB, sendo o parâmetro avaliado em todos os modelos animais de mania (YOUNG et al., 2007). Os modelos utilizados atualmente são considerados válidos por reproduzirem sintomas que lhes conferem validade aparente, como hiperatividade, estereotipia, maior sensibilidade aos estímulos, alerta, alterações nos padrões de sono e irritabilidade (O'DONNELL & GOULD, 2007). Destacam-se, atualmente, o modelo induzido por administração de psicoestimulantes, como a AMPH (FREY et al., 2006b; FREY et al., 2006c), induzido pela injeção intracerebroventricular (ICV) de ouabaína, uma droga inibidora da $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase (EL-MALLAKH et al., 2003) e pela privação de sono (ARMANI et al., 2012). A hiperatividade induzida por esses modelos animais é revertida e/ou prevenida pela administração de lítio, denotando validade preditiva desses modelos.

O modelo animal de mania induzida por AMPH se tornou um dos modelos farmacologicamente mais bem estabelecido e amplamente utilizado para o estudo da mania. Esse modelo se baseia no fato de que no TAB, especialmente nos episódios de mania, observam-se alterações na transmissão dopaminérgica (FREY et al., 2006b).

A anfetamina (*1-methyl-2-phenethylamine*, AMPH) é um psicoestimulante comumente usado para tratar transtornos graves, incluindo transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH), narcolepsia e obesidade. O mecanismo de ação da AMPH envolve um aumento de monoaminas, particularmente dopamina (DA). Os dois principais alvos de ação da AMPH são o transportador de DA (DAT) e o transportador vesicular de monoamina (VMAT), inibindo competitivamente o transporte desse neurotransmissor para a célula e impedindo o enchimento das vesículas sinápticas. Como consequência, ocorre o transporte reverso de DA, o que favorece a liberação desse neurotransmissor de terminais pré-sinápticos, independentemente de potencial de ação. Esse processo leva ao aumento de DA na fenda sináptica, aumentando a transmissão dopaminérgica e, conseqüentemente, seus efeitos neurotóxicos (ELLIOTT & BEVERIDGE, 2005; FLECKENSTEIN et al., 2007). Animais *Knockdown* para o DAT que apresentam redução da função desse transportador, exibem um padrão comportamental de hiperlocomoção e tem sido proposto como modelo animal de mania (YOUNG et al., 2011).

No modelo proposto por Frey e colaboradores (2006b; 2006c), tem-se a reprodução de alguns aspectos fisiopatológicos do TAB, o que confere a esse modelo animal validade de constructo. Mostrou-se que a administração de AMPH leva a alteração na neuroplasticidade, com redução hipocampal de BDNF e ocorrência de estresse oxidativo por alterações em enzimas antioxidantes e aumento do produto de peroxidação lipídica, o malonaldeído. Estudos posteriores mostraram, nesse modelo, redução do importante antioxidante endógeno, a GSH (MACÊDO et al., 2012), aumento da atividade da GSK-3 β (CECHINEL-RECCO et al., 2012) e indução de disfunção mitocondrial (VALVASSORI et al., 2010). Além disso, todas essas alterações reproduzidas nesse modelo e encontradas nos pacientes com TAB foram prevenidas e/ou revertidas pelo lítio, sustentando a hipótese do potencial translacional desse modelo.

1.5 Áreas Cerebrais

Os estudos atuais propõem uma base neurobiológica para a desregulação emocional no TAB associada, por exemplo, a anormalidades na ativação de áreas cerebrais como corpo estriado, amígdala, córtex pré-frontal e hipocampo. Existem evidências, ainda, que confirmam o aumento do volume da massa cinzenta em regiões como amígdala, córtex pré-frontal e hipocampo após o tratamento com lítio em pacientes bipolares (FREY et al., 2013).

A avaliação de áreas como o córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo apresenta relevância nos modelos animais de transtornos de humor, uma vez que essas regiões estão envolvidas no processamento da emoção, aprendizado e cognição. Tais regiões estão interconectadas e também conectadas com outras estruturas cerebrais como o tálamo, hipotálamo e corpo estriado (FRANGOU, 2006). Os transtornos de humor estão associados a mudanças fisiopatológicas envolvendo alterações morfológicas destas regiões, como redução de tamanho, vulnerabilidade seletiva à morte celular de subpopulações de neurônios, alterações neuroquímicas em nível de receptor, na sinalização intracelular e na regulação da expressão gênica (TSANKOVA et al., 2007).

Interessantemente, estudos com modelos animais de mania relatam alterações neuroquímicas em algumas dessas áreas cerebrais, como amígdala, hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal. Está bem documentada a ocorrência de estresse oxidativo, com redução de defesas antioxidantes, além do dano a lipídeos, proteínas e DNA. Além disso, já foi demonstrado a presença de alterações na função mitocondrial e em marcadores de neuroplasticidade, o que contribui para o maior dano oxidativo e ocorrência de processos apoptóticos em células neuronais (FREY et al. 2006a,b; ANDREAZZA et al., 2008; VALVASSORI et al., 2010; MACÊDO et al., 2012).

O cerebelo desempenha um papel importante no controle do equilíbrio e motor, além de participar de outras funções cerebrais, incluindo a regulação emocional e a cognição. Alterações na estrutura e função cerebelar têm sido relatadas em muitos transtornos psiquiátricos, como esquizofrenia, TAB, depressão, transtornos de ansiedade, demência e déficit de atenção e hiperatividade (BALDAÇARA et al., 2008). O vérmis cerebelar, localizada entre os dois hemisférios cerebelares, é referida como “cerebelo límbico” por estar relacionado com o controle das funções afetiva e cognitiva (SCHMAHMANN et al., 2007.) Estudos de neuroimagem revelam menor volume dessa região em pacientes com TAB em comparação com controles saudáveis (MILLS et al.,

2005; MONKUL et al., 2008; BALDAÇARA et al., 2011). Os resultados destes estudos sugerem que, assim como as outras áreas citadas anteriormente, alterações no vérmis cerebelar podem também ter papel importante na desregulação emocional de pacientes bipolares.

1.6 Candesartana

O princípio ativo *candesartana cilexetil* (Figura 6) é a substância ativa dos medicamentos com os nomes comerciais Atacand® (Medicamento de Referência), Blopress® e Desarcor® (Medicamentos Similares) e Candesartana cilexetil (Medicamentos Genéricos). Esses fármacos são pró-drogas, sendo convertidos à droga fisiologicamente ativa por esterases intestinais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

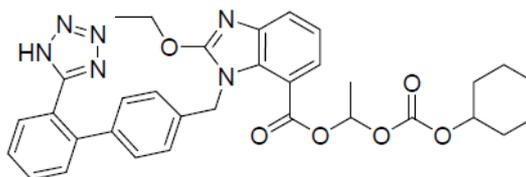


Figura 6 – Estrutura molecular do candesartana. A candesartana é um derivado imidazólico, contendo um grupo difenil tetrazólio (VACULIKOVA et al., 2012).

A candesartana (CDS) é um fármaco do tipo ARB seletivo para AT1, cuja principal indicação é para tratamento da Hipertensão Arterial Sistêmica, além de ser eficaz em reduzir os riscos de eventos cardiovasculares e renais (ROBLES et al., 2013) devido à sua atividade anti-inflamatória e seus efeitos protetores vasculares (SAAVEDRA et al., 2011). Esses fármacos são os meios mais específicos para bloquear a cascata enzimática do SRA (NAIK et al., 2010). Os ARBs têm sido associados a um perfil de alta tolerabilidade, sendo melhor que qualquer uma das outras classes de agentes anti-hipertensivos, por exemplo, os inibidores da ECA (GREATHOUSE & WEIR, 2012). Entretanto, podem ocorrer alguns efeitos adversos, como hipotensão, angina, febre, taquicardia, sonolência e dispepsia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). É um fármaco altamente seletivo para AT1Rs, com alta potência e ação de longa duração. (CERNES et al., 2011). Os ensaios clínicos mostram uma eficácia para o CDS na faixa de dose de 2 a 32 mg uma vez ao dia na hipertensão, insuficiência cardíaca, na redução da excreção urinária de albumina no diabetes *mellitus* e na coexistência de hipertensão e insuficiência renal (GLEITER et al., 2004).

1.7 Justificativa e Relevância

O TAB é um transtorno mental crônico, prevalente, potencialmente grave e associado a custo excessivo aos sistemas de saúde. Apesar dos progressos já alcançados no desenvolvimento de fármacos para esse transtorno, a farmacoterapia ainda permanece restrita e pouco eficaz, resultado de uma etiologia complexa e ainda pouco compreendida. Diversos estudos já comprovaram a associação do TAB com o dano cerebral induzido por estresse oxidativo, inflamação e alterações na neuroplasticidade. Entretanto, não há registros na literatura sobre a ocorrência de processo inflamatório em modelos animais de mania, sendo necessária uma melhor compreensão sobre os mecanismos moleculares envolvidos na resposta imune para que sejam elaborados novos tratamentos que produzam mudanças no desfecho dessa doença. Além disso, apesar de estudos mostrarem alterações no volume do vérmis cerebelar em pacientes bipolares, nenhum estudo pré-clínico avaliou ainda alterações neuroquímicas nessa área em modelos animais de mania, sendo relevante estudar as possíveis alterações nessa região induzidas pela AMPH.

O SRA tem sido alvo de importantes estudos no que diz respeito a doenças neurológicas e, atualmente, reconhece-se o papel importante da Angiotensina II em transtornos de ansiedade e humor. A candesartana é um fármaco já utilizado na clínica, principalmente aplicado na terapêutica da hipertensão arterial e diversos estudos recentes têm mostrado o efeito neuroprotetor desse fármaco, evidenciado por ações sobre a neuroplasticidade, estresse oxidativo e neuroinflamação. Tendo em vista a necessidade de se encontrar novos agentes terapêuticos para o TAB, torna-se relevante estudar o efeito do bloqueio de AT1Rs pela candesartana em um modelo animal de mania, contribuindo, assim, para a busca de alternativas terapêuticas para esse transtorno.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar os possíveis efeitos preventivos e/ou terapêuticos da CDS no episódio de mania induzida por AMPH em camundongos.

2.2 Objetivos Específicos

- Verificar o efeito da administração oral de CDS sobre a atividade locomotora no modelo animal de mania induzido por AMPH;
- Avaliar a presença de alterações na memória de trabalho causadas pela AMPH e o efeito da administração oral de CDS na prevenção e/ou reversão dessas alterações;
- Determinar o efeito da administração oral CDS nos parâmetros de estresse oxidativo através da determinação dos níveis de GSH e de TBARS no vérmis cerebelar, hipocampo, córtex pré-frontal e corpo estriado no modelo animal de mania induzido AMPH;
- Avaliar o efeito da AMPH nos níveis de TNF- α no vérmis cerebelar e hipocampo no modelo animal de mania induzido AMPH;
- Determinar o efeito da administração oral de CDS nos níveis de TNF- α no vérmis cerebelar e hipocampo no modelo animal de mania induzido AMPH;
- Avaliar o efeito da administração oral de CDS nos níveis hipocampais de BDNF no modelo animal de mania induzido AMPH;
- Avaliar o efeito da administração oral de CDS nos níveis hipocampais de fosfo-Ser9-GSK-3 β no modelo animal de mania induzido AMPH.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados camundongos da linhagem *Swiss* (Espécie: *Mus musculus*), machos (peso: 25-30 g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram divididos em 12-16 animais por grupo, aclimatados por uma semana antes do início dos experimentos e mantidos na sala experimental do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC, em ciclo claro-escuro de 12 horas, temperatura e umidade constantes, dispondo de água e ração *ad libitum*. Os procedimentos experimentais seguiram as diretrizes do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo início após a aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal da UFC (CEPA-UFC) sob o protocolo nº 065/2013.

3.2 Modelo Experimental

O modelo animal de mania foi induzido através da administração de 2 mg/Kg/dia de AMPH (Sigma-Aldrich, EUA) via intraperitoneal (i.p.), diluída em solução salina (FREY et al., 2006c). Os animais foram tratados com quatro doses de CDS (0,1, 0,3, 1 e 3 mg/kg/dia) via oral (v.o.), baseado em estudos prévios que mostraram efeito neuroprotetor dessa droga nas doses selecionadas (HAMAI et al., 2006; SÁNCHEZ-LEMUS et al., 2009; MERTENS et al., 2011). Devido à baixa lipofilicidade dessa droga, foi necessário prepará-la em solução a 0,5% de carboximetil celulose (CMC) (KISHI et al., 2012). Como droga antimaníaca padrão, foi administrado carbonato de lítio (Sigma-Aldrich, EUA) 47,5 mg/kg/dia i.p., diluído em água (FREY et al., 2006c). Todas as drogas foram preparadas diariamente e administradas no mesmo horário, entre às 8 e às 10 horas da manhã.

3.3 Delineamento Experimental

Os experimentos foram conduzidos em duas etapas (Experimentos 1 e 2) e foram utilizados dois protocolos de tratamento, reversão e prevenção.

3.3.1 Etapas experimentais

3.3.1.1 Experimento 1

Nessa etapa, foram testadas as quatro doses de CDS (0,1, 0,3, 1 e 3 mg/kg/dia) e os animais foram submetidos aos testes comportamentais (Campo Aberto e Y Maze) no último dia de tratamento. As áreas cerebrais e cerebelar foram utilizadas para avaliação do estresse oxidativo (GSH e TBARS).

3.3.1.2 Experimento 2

A partir dos resultados obtidos nos testes comportamentais e nas análises bioquímicas de estresse oxidativo, selecionaram-se duas doses de CDS (0,3 e 1 mg/Kg/dia) para dar sequência aos estudos neuroquímicos. Foram quantificados os níveis de BDNF, fosfo-Ser9-GSK-3 β e TNF- α .

3.3.2 Protocolos de Tratamento

3.3.2.1 Protocolo de Reversão

O protocolo de reversão reproduziu o tratamento do episódio maníaco agudo do TAB (FREY et al., 2006c). Os animais receberam AMPH ou salina durante os 14 dias de tratamento e, entre o 8º e o 14º dia, acrescentou-se o tratamento com CDS, lítio ou veículo (Figura 7).

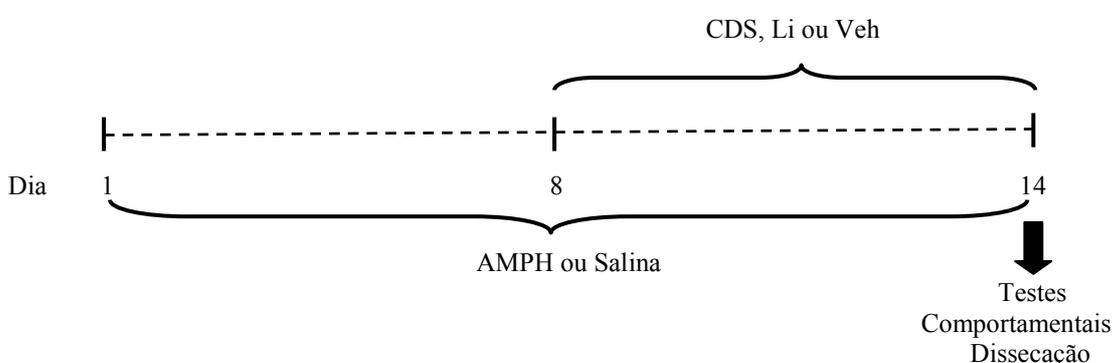


Figura 7 – Delineamento experimental no Protocolo de Reversão.

O quadro a seguir esquematiza os grupos experimentais no Protocolo de reversão (Tabela 1).

Tabela 1 - Protocolo de Reversão

REVERSÃO		
Grupos	Dias	
	1-7	8-14
1. AMPH + Veh	AMPH	+ Veículo
2. AMPH + Li		+ Lítio
3. AMPH + CDS 0,1		+ CDS 0,1
4. AMPH + CDS 0,3		+ CDS 0,3
5. AMPH + CDS 1		+ CDS 1
6. AMPH + CDS 3		+ CDS 3
7. Controle	Sal	+ Veículo
8. Sal + Li		+ Lítio
9. Sal + CDS 0,1		+ CDS 0,1
10. Sal + CDS 0,3		+ CDS 0,3
11. Sal + CDS 1		+ CDS 1
12. Sal + CDS 3		+ CDS 3

Legenda: AMPH = d-anfetamina 2mg/kg i.p.; Veículo = CMC 0,5 % v.o.; Li = lítio 47,5 mg/kg i.p.; CDS = Candesartana (0,1, 0,3, 1 e 3 mg/Kg); Sal = Salina.

3.3.2.2 Protocolo de Prevenção

No protocolo de prevenção, foi simulada a fase de manutenção do tratamento do TAB (FREY et al., 2006c). Os animais receberam CDS, lítio ou veículo durante os 14 dias tratamento e, entre o 8º e o 14º dia, acrescentou-se o tratamento com AMPH ou salina (Figura 8).

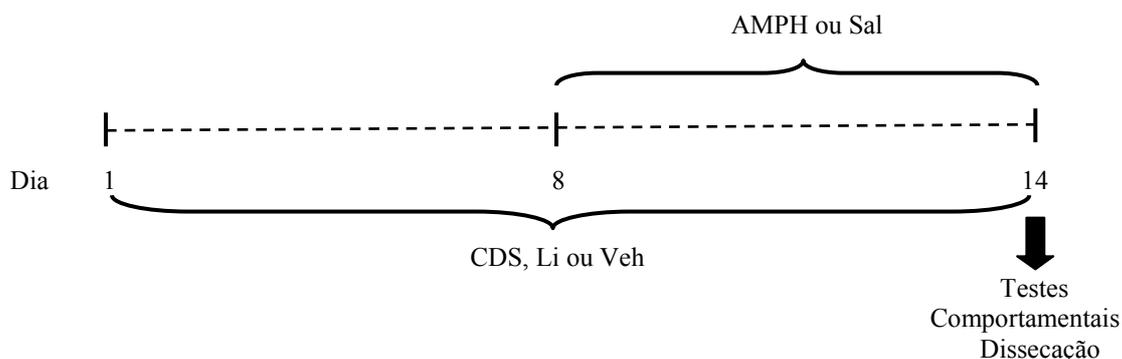


Figura 8 - Delineamento experimental no Protocolo de Prevenção.

O quadro a seguir esquematiza os grupos experimentais no Protocolo de prevenção (Tabela 2).

Tabela 2 - Protocolos de Prevenção

PREVENÇÃO		
Grupos	Dias	
	1-7	8-14
1. Veh + AMPH	Veículo	+ AMPH
2. Li + AMPH	Lítio	
3. CDS 0,1 + AMPH	CDS 0,1	
4. CDS 0,3 + AMPH	CDS 0,3	
5. CDS 1 + AMPH	CDS 1	
6. CDS 3 + AMPH	CDS 3	
7. Controle	Veículo	+ Sal
8. Li + Sal	Lítio	
9. CDS 0,1 + Sal	CDS 0,1	
10. CDS 0,3 + Sal	CDS 0,3	
11. CDS 1 + Sal	CDS 1	
12. CDS 3 + Sal	CDS 3	

Legenda: AMPH = d-anfetamina 2mg/kg i.p.; Veículo = CMC 0,5 % v.o.; Li = lítio 47,5 mg/kg i.p.; CDS = Candesartana (0,1, 0,3, 1 e 3 mg/Kg); Sal = Salina.

Os animais foram submetidos aos testes comportamentais duas horas após a última administração das drogas (FREY et al., 2006c). Em seguida, foram submetidos à eutanásia por decapitação e as áreas cerebrais (vérmis cerebelar, hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal) isoladas e armazenadas a -80° C.

3.4 Testes comportamentais

Os testes comportamentais foram realizados entre 10 e 16 horas. Os animais foram transportados para a sala onde foram realizados os testes de comportamento nas suas caixas-moradia e foram manipulados pela base da cauda em todos os momentos. Eles permaneceram nessa sala por pelo menos 30 minutos antes do início dos testes, para ambientação. Durante os testes de comportamento, o ambiente era mantido com baixa luminosidade (luz vermelha: 12 lux).

3.4.1 Campo Aberto

O teste de campo aberto foi realizado para avaliação da atividade locomotora dos animais (ARCHER, 1973). Para esse teste, utilizou-se uma arena quadrangular de acrílico, com área 300 x 300 mm, paredes 150 mm de altura de material transparente e assoalho dividido em nove quadrantes iguais (Figura 9). Cada animal foi colocado no quadrante superior esquerdo da arena e, durante cinco minutos, permitiu-se que este a explorasse enquanto foram registrados os seguintes parâmetros:

- *Crossings*: número de vezes que o animal mudou de quadrante com as quatro patas (atividade locomotora horizontal);
- *Rearings*: número de vezes que o animal ergueu-se nas patas traseiras (atividade locomotora vertical).

Após o teste, os animais foram devolvidos às suas caixas-moradia e realizou-se assepsia do campo aberto com álcool etílico a 70% entre um animal e outro.

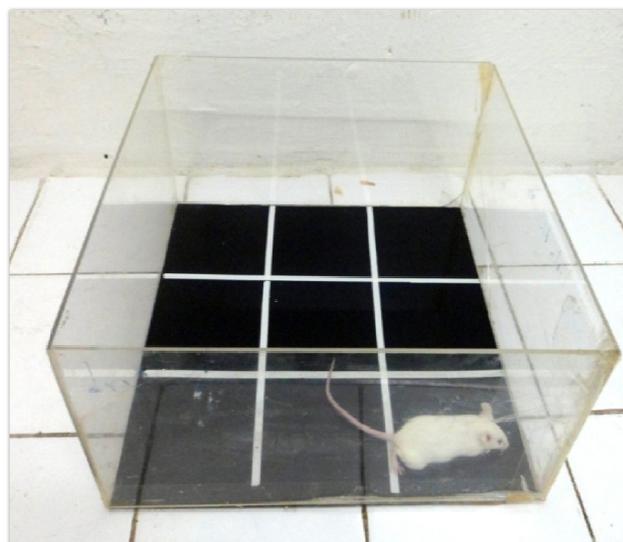


Figura 9 – Teste de Campo Aberto. Aparato utilizado no teste de campo aberto para avaliação da atividade locomotora dos animais (sala de comportamento do Laboratório de Neurofarmacologia da Universidade Federal do Ceará).

3.4.2 Y maze

Para avaliação da memória de trabalho utilizou-se o teste de Y Maze, sendo conduzido conforme descrito previamente (YAMADA et al., 1996). O labirinto em Y é constituído de três braços idênticos (40 cm de comprimento, 25 cm de altura e 6 cm de largura), dispostos a 120° um do outro, formando um triângulo central (Figura 10). Os animais foram colocados em um dos braços e a sequência das entradas nos braços foi registrada durante oito minutos. A alternância foi definida como a entrada nos três braços, em qualquer ordem, sem que houvesse repetição dos braços (por exemplo, 123, 321, 231). Após o teste, os animais foram devolvidos às suas caixas-moradia e realizou-se assepsia do labirinto em Y com álcool etílico a 70% entre um animal e outro.

A porcentagem de alternância foi calculada como a soma do número de alternâncias dividida pelo número total de entradas nos braços menos dois. Esses valores foram aplicados na fórmula a seguir:

$$\% \text{ Alternância} = \frac{\text{Soma de alternâncias}}{\text{n}^\circ \text{ de entradas} - 2}$$



Figura 10 - Teste de Y maze. Labirinto em Y utilizado para avaliação da memória de trabalho (sala de comportamento do Laboratório de Neurofarmacologia da Universidade Federal do Ceará).

3.5 Análises Bioquímicas

3.5.1 Determinação da concentração de glutathiona reduzida (GSH)

O conteúdo de GSH das áreas (vérmis cerebelar, hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal) foi medido segundo o método de Sedlak e Hanus (1982). O método baseia-se na reação do reagente de Ellman, 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB), com grupos livres de tiol (ELLMAN, 1959). Os tecidos cerebrais foram pesados e homogeneizados a 10 volumes com tampão fosfato de sódio 50mM acrescido de KCl 140 mM, pH7,4. Foi realizada, então, uma centrifugação a 14000 rpm por 20 minutos a 4° C. O volume de 40 µL do sobrenadante foi adicionado a 50 µL de água destilada e 10 µL de ácido tricloroacético a 50%. O material foi centrifugado a 5000 rpm por 15 minutos a 4° C. Em seguida, foi coletado 60 µL do sobrenadante, colocado nos poços da placa e acrescido de 102 µL da solução de tampão Tris-HCl 0,4M + EDTA 0,02 M (pH 8,9) (25 mL) e DTNB 0,01M (0,65 mL) adicionados aos poços imediatamente antes da leitura. A leitura foi feita no comprimento de onda de 412nm. A concentração de glutathiona reduzida foi expressa em ng de GSH/g de tecido, tendo por base uma curva padrão.

3.5.2 Avaliação da peroxidação lipídica (TBARS)

O ensaio para quantificação de TBARS é baseado na reação do MDA com duas moléculas de TBA, em meio ácido (pH 1-2) e a temperatura elevada (95-100° C), gerando um cromógeno róseo medido espectrofotometricamente (DRAPER & HADLEY, 1990).

O protocolo descrito a seguir foi realizado de acordo com Draper e colaboradores (1993) para determinação dos níveis de TBARS das áreas (vérmis cerebelar, hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal). Os tecidos cerebrais foram pesados e homogeneizados a 10 volumes com tampão fosfato de sódio 50mM, acrescido de KCl 140 mM, pH7,4. Foi realizada a centrifugação dos homogenatos a 14000 rpm por 20 minutos a 4° C. O volume de 50 µL do sobrenadante foi adicionado a 100 µL de ácido tricloroacético 10 %, e o material centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos a 4° C. Em seguida, 100 µL do sobrenadante foram recuperados, misturados a 100 µL de TBA 0,67% e incubados em água fervente (95 - 100° C) por 30 minutos. Após o resfriamento,

150 μL do material foram colocados em cada poço da placa e foi feita a leitura em espectrofotômetro a 532 nm. Os resultados foram expressos em μmol de MDA/g de tecido, tendo por base uma curva padrão.

3.5.3 Determinação dos níveis de BDNF

O nível de BDNF no hipocampo foi quantificado por ensaio imunoenzimático (Chemikine BDNF Sandwich ELISA kit; Merk Millipore, USA). As amostras foram homogeneizadas a 20 volumes com solução PBS pH 7,4 acrescida de inibidores de protease (Sigma-Aldrich), sendo, então, centrifugadas a 14000 rpm durante 30 minutos a 4° C. Para o preparo da curva padrão, procedeu-se da seguinte maneira. Foram numerados 8 tubos de ensaio de 1 a 8 e adicionou-se 950 μL de diluente no primeiro tubo e 500 μL nos demais. Em seguida, preparou-se o primeiro padrão adicionando 50 μL da solução padrão de BDNF a 10000 pg/mL no primeiro tubo de ensaio. Os padrões foram preparados em uma diluição 1:2 do anterior. Retirou-se 500 μL do 1° padrão e colocou-o no 2°; retirou 500 μL do 2° poço e colocou no 3°; continuou esse mesmo processo até o 7°. No 8° padrão, colocou-se apenas o diluente, correspondendo ao branco. Foram adicionados, em cada poço da placa de ELISA, 100 μL do sobrenadante da amostra ou dos padrões previamente preparados. A placa foi incubada por no mínimo 12 horas a 4° C. Seguiu-se, então, com uma meticolosa lavagem da placa utilizando a solução de lavagem específica do Kit e, posteriormente, adicionou-se 100 μL do anticorpo monoclonal anti-BDNF em cada poço, sendo as placas incubadas por duas horas à temperatura ambiente. Em seguida, após nova lavagem, 100 μL de solução de estreptoavidina conjugada com peroxidase foram aplicados aos poços, e as placas foram incubadas por mais uma hora à temperatura ambiente. Finalmente, após a última lavagem, colocou-se 100 μL da solução substrato para revelação TMB/E (tetrametilbenzidine) em cada poço, sendo as placas incubadas a temperatura ambiente por 15 minutos. Para interromper a reação, adicionou-se 100 μL da solução de parada em cada poço e procedeu-se com a leitura das placas utilizando-se o comprimento de onda de 450 nm. Os resultados foram expressos em pg de BDNF/g de tecido, tendo por base uma curva padrão.

3.5.4 Dosagem dos níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β

A quantificação da forma fosforilada da proteína GSK-3 β no hipocampo foi realizada por ensaio imunoenzimático [Human/Mouse/Rat Phospho-GSK-3 β (S9) ELISA; Merk Millipore, USA]. As amostras foram homogeneizadas a 20 volumes com solução PBS pH 7,4 acrescida de inibidores de protease (Sigma-Aldrich), sendo, então, centrifugadas a 14000 rpm durante 30 minutos a 4° C. Para o preparo da curva padrão, procedeu-se da seguinte maneira. Foram numerados 8 tubos de ensaio de 1 a 8 e adicionou-se 150 μ L da solução padrão de fosfo-Ser9-GSK-3 β à concentração de 100 Units/mL no primeiro e segundo tubos. Do 2° ao 8° tubo foram colocados 150 μ L do diluente ELISA. Em seguida, retirou-se 150 μ L do 2° padrão e colocou-o no 3°; retirou 150 μ L do 3° e colocou no 4°; continuou esse mesmo processo até o 7°. No 8° padrão, colocou-se apenas o diluente, correspondendo ao branco. Em seguida, em cada poço da placa de ELISA, foram adicionados 50 μ L do sobrenadante da amostra ou dos padrões previamente preparados. Seguiu-se adicionando 50 μ L do anticorpo de detecção em cada poço. A placa foi selada e incubada a temperatura ambiente por três horas e, posteriormente, submetida à meticulosa lavagem utilizando a solução de lavagem específica do Kit. Posteriormente, colocou-se 100 μ L da solução substrato para revelação TMB (tetrametilbenzidine) em cada poço, sendo as placas novamente incubadas a temperatura por 45 minutos, seladas com papel laminado para proteger da luz. Para interromper a reação, adicionou-se 100 μ L da solução de parada em cada poço e procedeu-se imediatamente com a leitura das placas utilizando o comprimento de onda de 450 nm. Os resultados foram expressos em pg de fosfo-Ser9-GSK-3 β /g de tecido, tendo por base uma curva padrão.

3.5.5 Dosagem de TNF- α

Os níveis de TNF- α foram avaliados no vérnis cerebelar, com o objetivo de aprofundar os estudos nessa região e no hipocampo, devido à relação desse mediador inflamatório com aspectos de neuroplasticidade e sobrevivência celular (BRIETZKE & KAPCZINSKI, 2008). Os níveis de TNF- α foram quantificados por ensaios imunoenzimáticos (ELISA; R&D Systems, USA). As amostras foram homogeneizadas a 8 volumes com solução PBS pH 7,4, sendo, então, centrifugadas a 14000 rpm durante 30 minutos a 4° C. Primeiramente, foram colocados 100 μ L da solução contendo os

anticorpos de captura específicos para TNF- α com concentração de 4 $\mu\text{g/mL}$ nos poços da placa NUK. As placas foram incubadas por no mínimo 16 horas a 4° C cobertas com papel adesivo. Seguiu-se, então, com uma meticulosa lavagem da placa com 200 μL de solução de PBS-Tween e, posteriormente, adicionou-se 300 μL de solução de albumina a 1% em cada poço. As placas foram cobertas com papel adesivo e novamente incubadas por uma hora a temperatura ambiente. Em seguida, após nova lavagem, foram adicionados 100 μL dos sobrenadantes das amostras em cada poço. Nesse momento, preparou-se a curva padrão adicionando 200 μL de solução padrão com concentração de 4000pg/ml no 1° poço e 100 μL de solução PBS nos outros poços. Os padrões foram preparados em uma diluição 1:2 do anterior. Retirou-se 100 μL do 1° poço e colocou-o no 2°; retirou 100 μL do 2° poço e colocou no 3°; continuou esse mesmo processo até o 8°. Os últimos 100 μL foram descartados e as placas cobertas com papel adesivo e incubadas por mais duas horas a 4° C. Foi realizada novamente lavagem das placas, como descrito previamente. Posteriormente, em cada poço adicionou-se 100 μL dos anticorpos secundários (400 ng/mL). As placas foram, então, cobertas com papel adesivo, incubadas por mais duas horas a 4° C e depois lavadas. Adicionou-se 100 μL da solução de estreptavidina a 0,5 % em cada poço e as placas cobertas com papel laminado foram incubadas por mais 20 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, após a última lavagem das placas, foram pipetados 100 μL da solução de substrato para revelação em cada poço e as placas cobertas com papel alumínio e incubadas por mais 20 minutos a temperatura ambiente. Para interromper a reação, adicionou-se 100 μL da solução de parada em cada poço e procedeu-se com a leitura das placas utilizando-se o comprimento de onda de 450 nm. Os resultados foram expressos em pg de TNF- α /g de tecido, tendo por base uma curva padrão.

3.6 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism, versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, EUA). Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média e analisados através de one-way ANOVA seguido do teste de Student's-Newman-Keuls. Os valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação da atividade locomotora

Na prevenção, a AMPH aumentou significativamente a atividade locomotora horizontal (crossings) e vertical (rearings) ($p < 0,001$) comparado ao grupo controle [Veh + AMPH: crossings ($81,78 \pm 6,601$) rearings ($8,333 \pm 0,6146$)]; Controle: crossings ($45,30 \pm 4,099$) rearings ($1,571 \pm 0,4809$)] (Figura 12).

As doses de CDS avaliadas e o Lítio preveniram o aumento do número de crossings e rearings induzido pela AMPH, com exceção da dose CDS 3 mg/Kg que não preveniu o aumento de rearings ($p < 0,001$) [CDS 0,1 + AMPH: crossings ($52,33 \pm 4,805$) rearings ($3,625 \pm 0,8647$); CDS 0,3 + AMPH: crossings ($57,22 \pm 3,865$) rearings ($3,6 \pm 1,122$); CDS 1 + AMPH: crossings ($44,67 \pm 3,797$) rearings ($2,0 \pm 0,8452$); CDS 3 + AMPH: crossings ($43,75 \pm 5,728$) rearings ($8,5 \pm 1,025$); Li + AMPH : crossings, ($50,63 \pm 4,149$); rearings ($3,857 \pm 1,1$)].

A CDS e o Lítio sozinhos não alteraram a atividade locomotora quando comparados ao grupo Controle [CDS 0,1 + Sal: crossings ($52 \pm 1,886$) rearings ($3,222 \pm 1,077$); CDS 0,3 + Sal: crossings ($57,25 \pm 3,447$) rearings ($3,571 \pm 0,8123$); CDS 1 + Sal: crossings ($42,83 \pm 3,6$) rearings ($4,875 \pm 1,302$); CDS 3 + Sal: crossings ($56,0 \pm 5,329$) rearings ($4,750 \pm 0,7962$); Li + Sal: crossings ($43,89 \pm 5,468$); rearings ($3,25 \pm 0,9210$)].

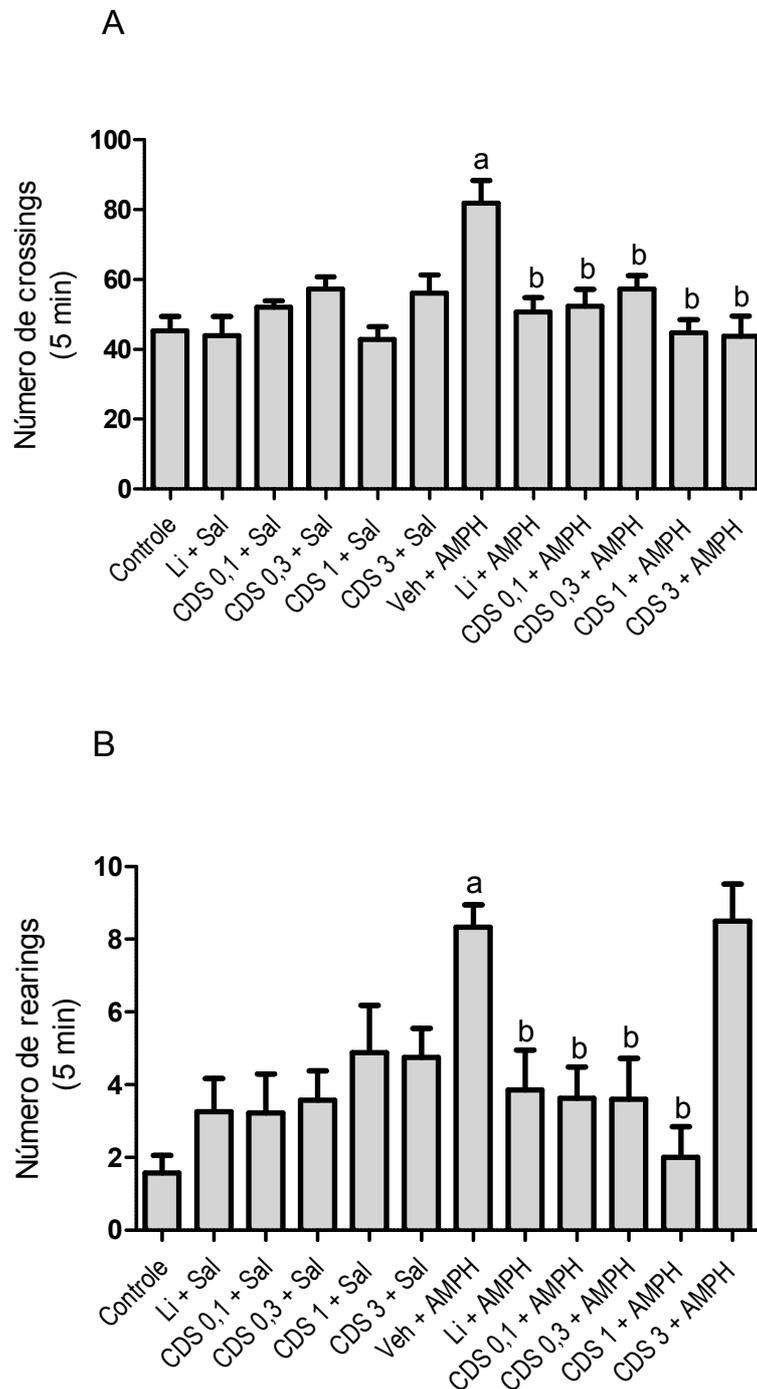


Figura 12– Atividade locomotora no protocolo de Prevenção. Em A, número de crossings e, em B, número de rearings. As barras representam a média \pm erro padrão da média do número de crossings ou rearings (Veh = Veículo; Sal = Salina; CDS 0,1 = Candesartana 0,1 mg/Kg/dia; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; CDS 3 = Candesartana 3 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio). ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle; ^b $p < 0,05$ versus grupo Veh + AMPH de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

No protocolo de Reversão, o grupo que recebeu apenas AMPH também apresentou resultados significativamente maiores de crossings e rearings ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo Controle [Veh + AMPH: crossings ($97,57 \pm 8,829$) rearings ($23,0 \pm 3,204$); Controle: crossings ($41,71 \pm 3,145$) rearings ($4,833 \pm 1,759$)] (Figura 13).

Todas as doses CDS testadas reverteram o aumento de crossings e rearings causado pelo tratamento com AMPH, sendo o efeito similar ao obtido no grupo tratado com lítio ($p < 0,001$) [AMPH + CDS 0,1: crossings ($59,67 \pm 3,353$) rearings ($13,63 \pm 2,322$); AMPH + CDS 0,3 : crossings ($63,67 \pm 5,004$) rearings ($9,143 \pm 0,9863$); AMPH + CDS 1: crossings ($62,0 \pm 5,354$) rearings ($9,0 \pm 2,394$); AMPH + CDS 3: crossings ($59 \pm 4,721$) rearings ($7,571 \pm 1,11$); AMPH + Li: crossings ($56,43 \pm 5,108$) rearings ($12,33 \pm 1,650$)].

Da mesma forma que na Prevenção, na reversão, CDS e lítio administrados sozinhos não alteraram a atividade locomotora dos animais quando comparados ao grupo Controle [Sal + CDS 0,1: crossings ($49,67 \pm 2,140$) rearings ($2,333 \pm 0,8028$); Sal + CDS 0,3: crossings ($54,50 \pm 4,357$) rearings ($3,0 \pm 1,049$); Sal + CDS 1: crossings ($43,17 \pm 3,745$) rearings ($5,4 \pm 0,9798$); Sal + CDS 3: crossings ($46,33 \pm 5,277$) rearings ($3,833 \pm 1,108$); Sal + Li: crossings ($54,71 \pm 7,764$); rearings ($5,2 \pm 1,463$)].

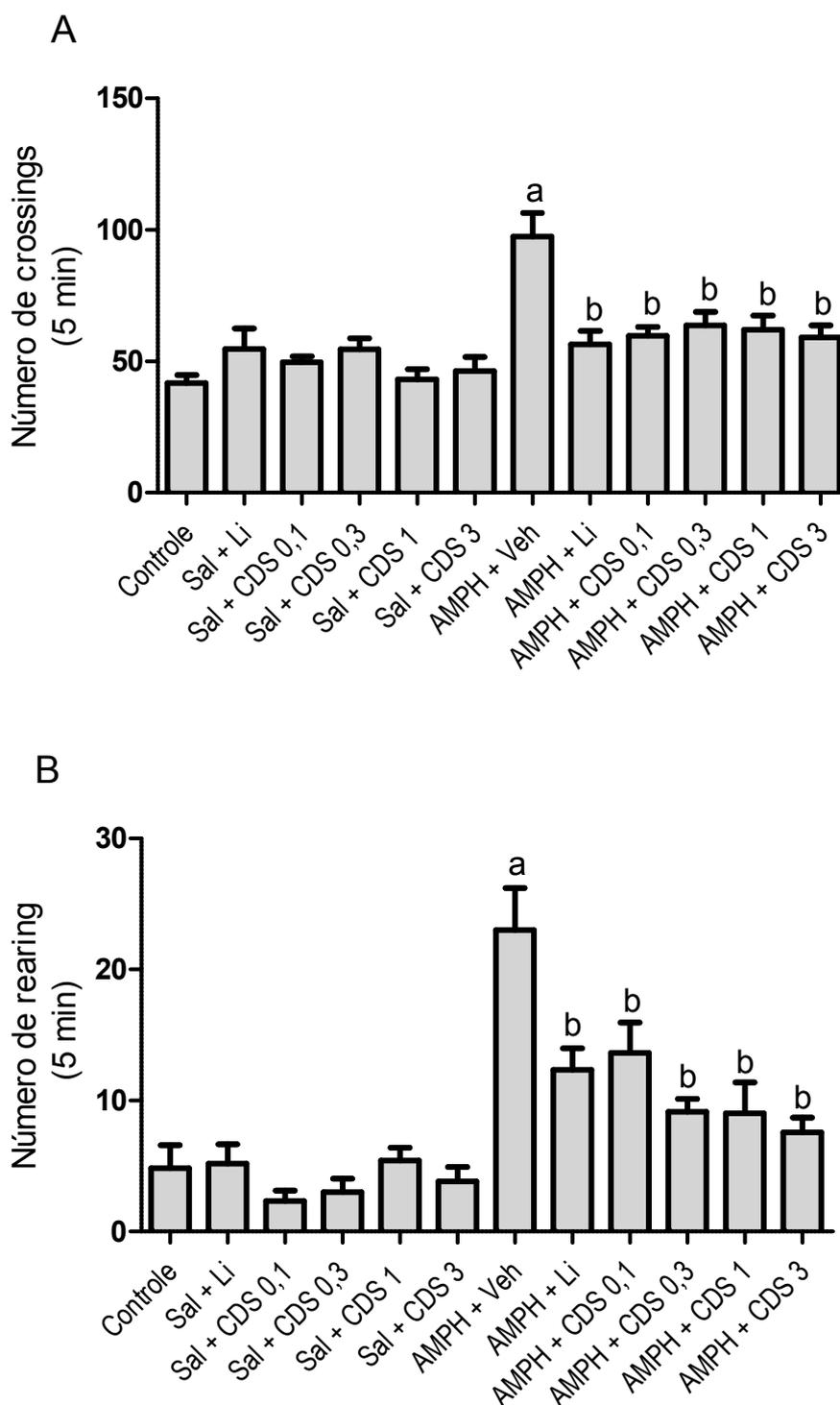


Figura 13 – Atividade locomotora no protocolo de Reversão. Em A, número de crossings e, em B, número de rearings. As barras representam a média ± erro padrão da média do número de crossings ou rearings (Veh = Veículo; Sal = Salina; CDS 0,1 = Candesartana 0,1 mg/Kg/dia; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; CDS 3 = Candesartana 3 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio). ^ap < 0,05 versus grupo Controle; ^bp < 0,05 versus grupo AMPH + Veh de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

4.2 Avaliação da memória de trabalho

Observou-se, através do teste de Y Maze, que a memória de trabalho apresentou-se prejudicada pelo tratamento com AMPH no protocolo de Prevenção, conforme Figura 14A, sendo a porcentagem de alternâncias corretas desse grupo inferior ao grupo Controle ($p < 0,01$) [Controle ($82,20 \pm 3,832$) e Veh + AMPH ($61,83 \pm 3,188$)].

Apenas a menor dose de CDS não preveniu o déficit cognitivo induzido pela AMPH na prevenção. As demais doses desse fármaco apresentaram resultados significativamente superiores quando comparados ao grupo Veh + AMPH ($p < 0,05$) [CDS 0,1 + AMPH ($79,29 \pm 3,300$); CDS 0,3 + AMPH ($82,29 \pm 3,021$); CDS 1 + AMPH ($80,29 \pm 3,727$); CDS 3 + AMPH ($82,71 \pm 2,589$)]. O tratamento com lítio, entretanto, não mostrou restaurar a função cognitiva dos animais nesse teste ($66,57 \pm 5,429$).

Da mesma forma que na prevenção, na reversão (Figura 14B), a memória de trabalho também foi prejudicada pelo tratamento com AMPH, estando a porcentagem de alternâncias corretas do grupo AMPH + Veh significativamente inferior quando comparada ao grupo Controle ($p < 0,001$) [Controle ($88,33 \pm 4,112$) e AMPH + Veh ($66,0 \pm 2,819$)].

A dose de CDS 0,3 mg/Kg ($78,50 \pm 1,615$) tendeu a reverter o déficit cognitivo induzido pela AMPH, entretanto, os dados entre os grupos AMPH + Veh e AMPH + CDS 0,3 não diferiram estatisticamente. Já as demais doses estudadas desse fármaco apresentaram melhora significativa da cognição, apresentando dados de alternâncias corretas superiores quando comparados ao grupo que recebeu somente AMPH ($p < 0,05$) [AMPH + CDS 0,1 ($80 \pm 3,896$); AMPH + CDS 1 ($81 \pm 5,323$); AMPH + CDS 3 ($81,29 \pm 3,476$)]. O tratamento com lítio, ao contrário da CDS, não conseguiu reverter o déficit cognitivo induzido pela AMPH, não havendo diferença significativa entre os dois grupos AMPH + Veh e AMPH + Li ($67,13 \pm 2,997$).

Os fármacos lítio e CDS administrados sozinhos não apresentaram alteração na porcentagem de alternâncias corretas comparado ao grupo Controle nos protocolos de prevenção e reversão {*Prevenção*: [CDS 0,1 + Sal ($89,13 \pm 2,943$); CDS 0,3 + Sal ($75,75 \pm 2,651$); CDS 1 + Sal ($83,44 \pm 2,714$); CDS 3 + Sal ($76,22 \pm 3,135$); Li + Sal ($79,67 \pm 3,263$)]; *Reversão*: [Sal + CDS 0,1 ($89,00 \pm 3,950$); Sal + CDS 0,3 ($77,17 \pm 2,428$); Sal + CDS 1 ($87,67 \pm 3,451$); Sal + CDS 3 ($83,80 \pm 6,704$) Sal + Li ($73,50 \pm 3,538$)]}.

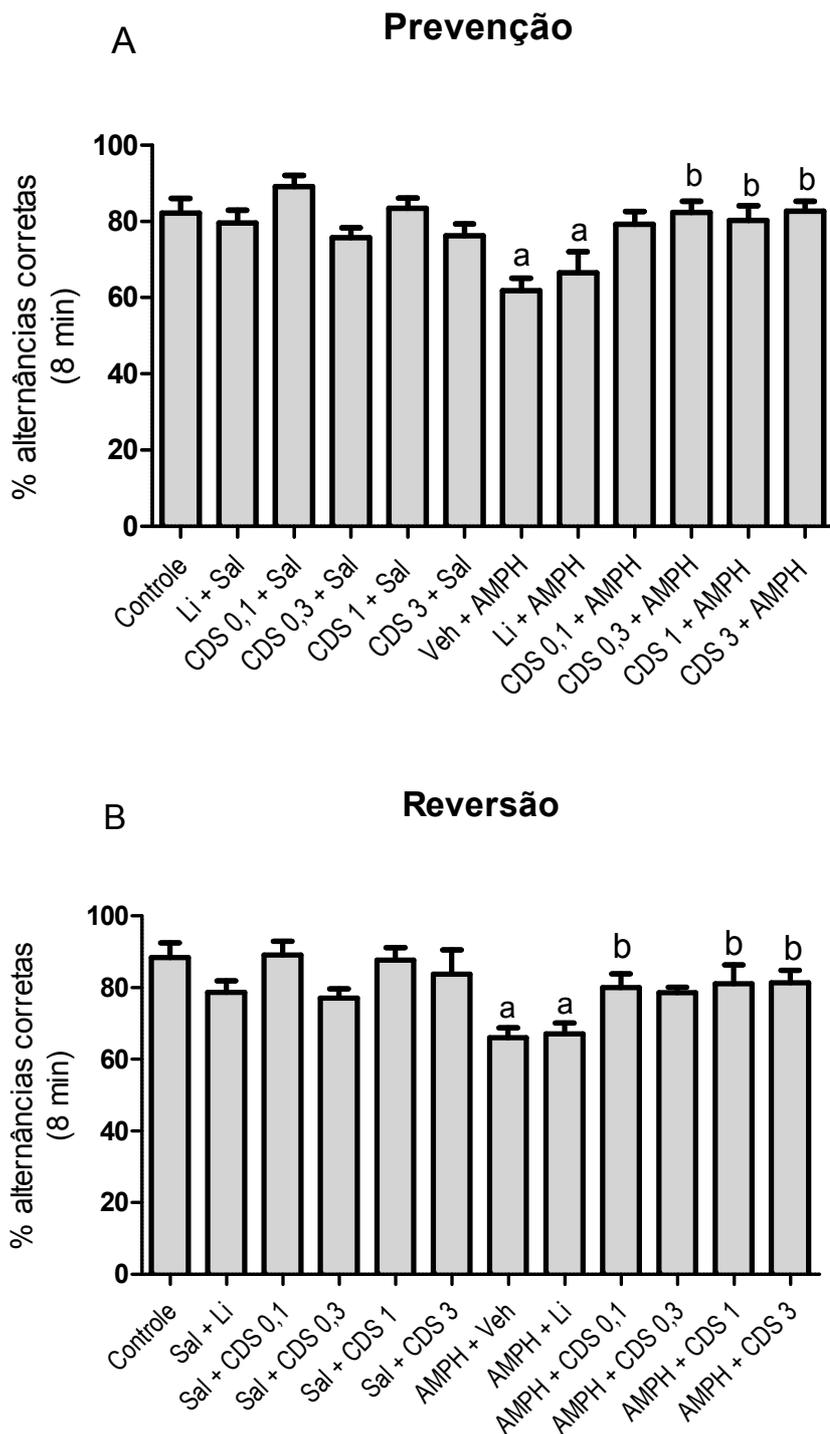


Figura 14 – Porcentagem de alternâncias corretas no teste de Y Maze. As barras representam a média \pm erro padrão da média. Em A, protocolo de Prevenção e, em B, protocolo de Reversão. (Veh = Veículo; Sal = Salina; CDS 0,1 = Candesartana 0,1 mg/Kg/dia; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; CDS 3 = Candesartana 3 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio). ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle; ^b $p < 0,05$ versus grupo Veh + AMPH, no protocolo de Prevenção e grupo AMPH + Veh, no protocolo de Reversão de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

4.3 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida

Verificou-se depleção do conteúdo de GSH pelo tratamento com AMPH no córtex pré-frontal ($p < 0,001$) hipocampo ($p < 0,001$) e vérmis cerebelar ($p < 0,05$), mostrando níveis significativamente inferiores comparado aos animais controles [Córtex pré-frontal: Veh + AMPH ($224,8 \pm 14,27$); Controle ($416,4 \pm 33,71$); Hipocampo: Veh + AMPH ($512,9 \pm 20,60$); Controle ($728,3 \pm 41,14$); Vérnis cerebelar Veh + AMPH ($543,4 \pm 20,59$); Controle ($683,1 \pm 46,60$)]. No corpo estriado, nenhuma diferença foi observada entre os grupos [Veh + AMPH ($490,2 \pm 12,92$); Controle ($575,1 \pm 27,31$)] (Figura 15).

O tratamento com lítio (Li + AMPH) não conseguiu prevenir nenhuma das alterações nos níveis de GSH induzidas pelo tratamento com AMPH [Córtex pré-frontal ($212,2 \pm 7,305$); Hipocampo ($560,0 \pm 15,72$); Corpo Estriado ($449,6 \pm 16,12$); Vérnis Cerebelar ($585,0 \pm 37,89$)].

O tratamento com CDS preveniu essa redução da defesa antioxidante no hipocampo nas doses de 0,3 ($p < 0,001$), 1 ($p < 0,001$) e 3 mg/Kg ($p < 0,05$) e na vérnis cerebelar nas doses de 1 ($p < 0,01$) e 3 mg/Kg ($p < 0,05$), apresentando maior conteúdo de GSH nessas áreas quando comparado ao tratamento apenas com AMPH. As doses de CDS 0,1 mg/Kg, no hipocampo e de 0,1 e 0,3 mg/Kg, no vérnis cerebelar não preveniram essa depleção [Hipocampo: CDS 0,1 + AMPH ($629,8 \pm 45,12$); CDS 0,3 + AMPH ($731,2 \pm 39,05$); CDS 1 + AMPH ($751,4 \pm 15,81$); CDS 3 + AMPH ($679,7 \pm 32,26$); Vérnis Cerebelar: CDS 0,1 + AMPH ($646,5 \pm 29,07$); CDS 0,3 + AMPH ($561,6 \pm 21,22$); CDS 1 + AMPH ($672,4 \pm 18,6$); CDS 3 + AMPH ($683,0 \pm 12,64$)].

Nenhuma das doses de CDS apresentou diferença nos níveis de GSH em relação ao tratamento com AMPH no córtex pré-frontal e corpo estriado [Córtex Pré-frontal: CDS 0,1 + AMPH ($250,1 \pm 19,16$); CDS 0,3 + AMPH ($211,5 \pm 9,245$); CDS 1 + AMPH ($211,5 \pm 9,245$); CDS 3 + AMPH ($276,1 \pm 276,1$); Corpo Estriado: CDS 0,1 + AMPH ($431,4 \pm 22,46$); CDS 0,3 + AMPH ($616,4 \pm 70,72$); CDS 1 + AMPH ($496,9 \pm 16,91$); CDS 3 + AMPH ($469,6 \pm 23,14$)].

Lítio e CDS, administradas isoladamente, não alteraram os níveis de GSH quando comparados ao grupo Controle em nenhuma das áreas avaliadas.

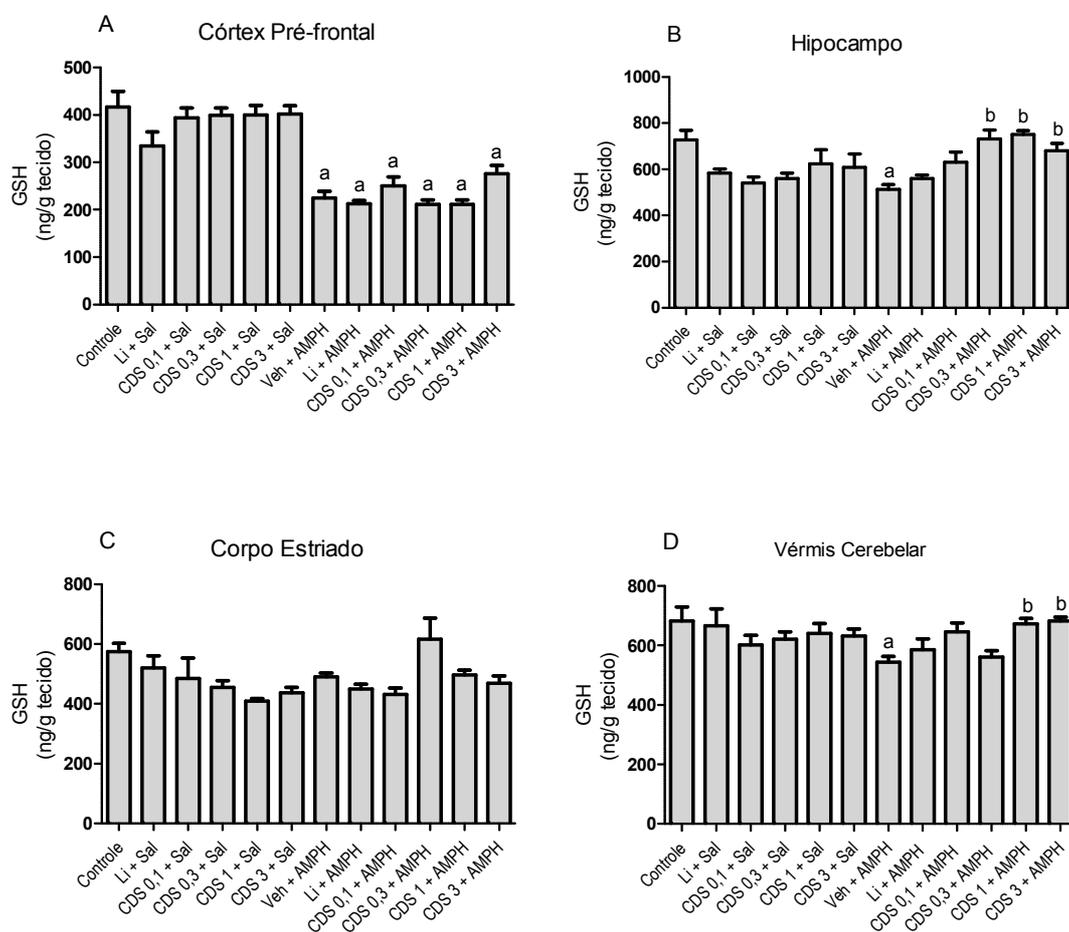


Figura 15 – Níveis de GSH das áreas cerebrais e cerebelar no protocolo de Prevenção. As barras representam a média ± erro padrão da média. Em A: córtex pré-frontal; B: hipocampo; C: Corpo Estriado; D: Vérnis Cerebelar. (GSH = glutationa reduzida; Veh = Veículo; Sal = Salina; CDS 0,1 = Candesartana 0,1 mg/Kg/dia; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; CDS 3 = Candesartana 3 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio). ^ap < 0,05 versus grupo Controle; ^bp < 0.05 versus grupo Veh + AMPH de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

Na Reversão, os níveis de GSH apresentaram-se diminuídos pelo tratamento com AMPH comparado ao Controle nas áreas avaliadas [Córtex pré-frontal ($p < 0,001$): AMPH + Veh ($383,1 \pm 13,44$); Controle ($537,4 \pm 33,71$); Hipocampo ($p < 0,05$): AMPH + Veh ($383,1 \pm 13,44$); Controle ($537,4 \pm 33,71$); Corpo estriado ($p < 0,001$): AMPH + Veh ($383,1 \pm 13,44$); Controle ($537,4 \pm 33,71$)]. No vérmis cerebelar, não foi observada nenhuma alteração no conteúdo de GSH pelo tratamento com AMPH comparado ao controle [AMPH + Veh ($592,1 \pm 14,44$); Controle ($629,5 \pm 28,60$)] (Figura 16).

Da mesma forma que na Prevenção, na Reversão, não se verificou efeito do lítio em restaurar os níveis de GSH depletados pelo tratamento com AMPH [Córtex Pré-frontal ($404,7 \pm 8,203$); Hipocampo ($489,7 \pm 13,47$); Corpo Estriado ($435,4 \pm 10,83$); Vérmis Cerebelar ($567,3 \pm 17,17$)].

Já a CDS apresentou efeito em todas as regiões avaliadas. No córtex pré-frontal, apenas a dose de 1 mg/kg não aumentou os níveis de GSH em relação ao grupo que recebeu apenas AMPH, sendo os valores de GSH das doses de 0,1 ($p < 0,01$), 0,3 ($p < 0,05$) e 3 mg/kg ($p < 0,05$) estatisticamente significativos comparado a esse grupo [AMPH + CDS 0,1 ($494,2 \pm 23,00$); AMPH + CDS 0,3 ($480,2 \pm 30,57$); AMPH + CDS 1 ($462,3 \pm 9,540$); AMPH + CDS 3 ($475,6 \pm 20,71$)]. No Hipocampo, apenas a dose de CDS 0,3 mg/kg apresentou o efeito de reverter a redução de GSH induzida pela AMPH ($p < 0,05$) [AMPH + CDS 0,1 ($538,7 \pm 23,18$); AMPH + CDS 0,3 ($561,3 \pm 22,27$); AMPH + CDS 1 ($445,0 \pm 16,62$); AMPH + CDS 3 ($490,9 \pm 13,61$)]. No corpo estriado, apenas a maior dose de CDS restaurou os níveis de GSH ($p < 0,01$) [AMPH + CDS 0,1 ($433,7 \pm 13,44$); AMPH + CDS 0,3 ($469,0 \pm 38,07$); AMPH + CDS 1 ($435,4 \pm 10,83$); AMPH + CDS 3 ($537,3 \pm 24,63$)]. No vérmis cerebelar, apesar do tratamento com AMPH não ter reduzido o conteúdo de GSH comparado ao controle, nos animais tratados com AMPH e CDS, a maior dose desse fármaco aumentou os níveis de GSH nessa área, diferindo dos animais tratados apenas com AMPH ($p < 0,01$) [AMPH + CDS 0,1 ($656,2 \pm 49,08$); AMPH + CDS 0,3 ($708,8 \pm 26,18$); AMPH + CDS 1 ($686,5 \pm 38,06$); AMPH + CDS 3 ($783,3 \pm 49,63$)].

O lítio administrado sozinho não alterou os níveis de GSH em nenhuma região quando comparado ao Controle. Entretanto, a CDS na dose de 3 mg/kg aumentou GSH no hipocampo ($772,6 \pm 26,87$) e corpo estriado ($785,3 \pm 18,30$) comparado ao Controle, enquanto a dose de 1 mg/Kg aumentou esses níveis apenas no hipocampo ($756,3 \pm 47,53$).

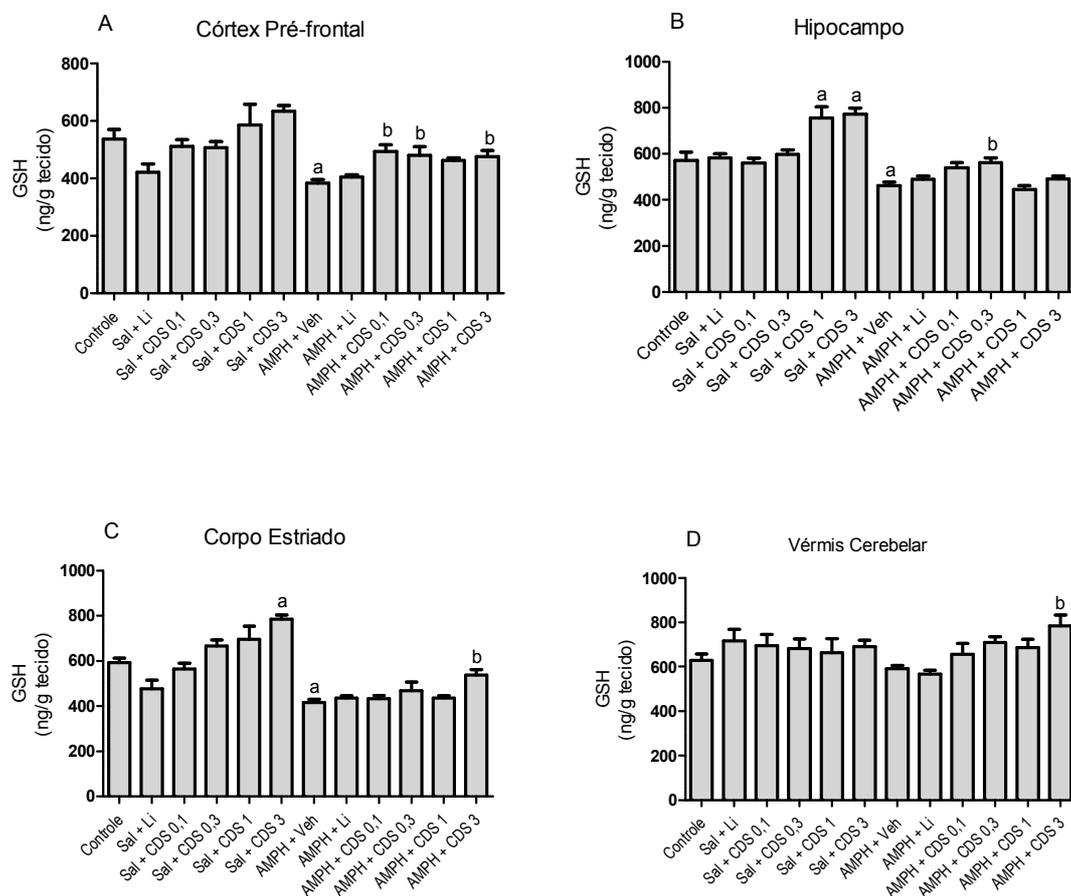


Figura 16 – Níveis de GSH das áreas cerebrais e cerebelar no protocolo de Reversão. As barras representam a média \pm erro padrão da média. Em A: córtex pré-frontal; B: hipocampo; C: Corpo Estriado; D: Vérnis Cerebelar. (GSH = glutationa reduzida; Veh = Veículo; Sal = Salina; CDS 0,1 = Candesartana 0,1 mg/Kg/dia; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; CDS 3 = Candesartana 3 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio). ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle; ^b $p < 0.05$ versus grupo AMPH + Veh de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

4.4 Determinação da Peroxidação Lipídica

Na Prevenção, observou-se aumento significativo da peroxidação lipídica nos animais tratados com AMPH, evidenciado pelos níveis elevados de MDA desses animais no córtex pré-frontal ($p < 0,05$), hipocampo ($p < 0,05$) e vérnis cerebelar ($p < 0,001$) quando comparado aos animais controle. Não foram observadas diferenças entre os grupos Controle e Veh + AMPH no corpo estriado [Córtex pré-frontal: Veh + AMPH ($108,2 \pm 8,423$); Controle ($79,68 \pm 6,313$); Hipocampo: Veh + AMPH ($187,6 \pm 12,71$); Controle ($148,5 \pm 3,340$); Corpo Estriado: Veh + AMPH ($45,59 \pm 5,811$); Controle ($36,78 \pm 4,910$); Vérnis Cerebelar: Veh + AMPH ($129,3 \pm 8,677$); Controle ($25,79 \pm 1,411$)] (Figura 17).

O tratamento com lítio preveniu significativamente o aumento de MDA apenas no córtex pré-frontal ($p < 0,001$) [Córtex pré-frontal ($66,06 \pm 4,436$); Hipocampo ($146,0 \pm 6,175$); Corpo Estriado ($41,90 \pm 3,015$); Vérnis Cerebelar ($130,5 \pm 5,986$)].

Observou-se efeito da CDS na redução da peroxidação lipídica no córtex pré-frontal, hipocampo e vérnis cerebelar. No córtex pré-frontal, a CDS preveniu o aumento de MDA induzido pela AMPH nas doses de 0,1 ($p < 0,01$), 0,3 ($p < 0,05$) e 1 mg/Kg ($p < 0,05$) [CDS 0,1 + AMPH ($81,76 \pm 4,507$); CDS 0,3 + AMPH ($82,56 \pm 4,078$); CDS 1 + AMPH ($84,13 \pm 3,544$); CDS 3 + AMPH ($87,85 \pm 4,270$)]. No hipocampo, os grupos tratados com AMPH e CDS 0,3 ou CDS 3 apresentaram níveis inferiores de MDA quando comparados ao grupo Veh + AMPH ($p < 0,001$) [CDS 0,1 + AMPH ($154,2 \pm 7,935$); CDS 0,3 + AMPH ($106,8 \pm 4,826$); CDS 1 + AMPH ($156,9 \pm 4,865$); CDS 3 + AMPH ($115,8 \pm 17,40$)]. Já no vérnis cerebelar, apenas a dose de CDS 1 mg/Kg foi capaz de prevenir a peroxidação lipídica nessa região, diferindo dos animais tratados apenas com AMPH ($p < 0,001$) [CDS 0,1 + AMPH ($114,0 \pm 9,891$); CDS 0,3 + AMPH ($114,9 \pm 6,135$); CDS 1 + AMPH ($91,37 \pm 8,834$); CDS 3 + AMPH ($101,1 \pm 6,943$)]. No corpo estriado, ao contrário das demais áreas, a única alteração observada foi o aumento de MDA do grupo CDS 3 + AMPH quando comparado ao grupo Veh + AMPH ($p < 0,05$) [CDS 0,1 + AMPH ($54,69 \pm 3,674$); CDS 0,3 + AMPH ($62,71 \pm 4,425$); CDS 1 + AMPH ($59,71 \pm 4,411$); CDS 3 + AMPH ($67,06 \pm 5,186$)].

Tanto o lítio quanto a CDS não apresentaram efeito quando administrados sozinhos, sendo os resultados semelhantes ao grupo Controle.

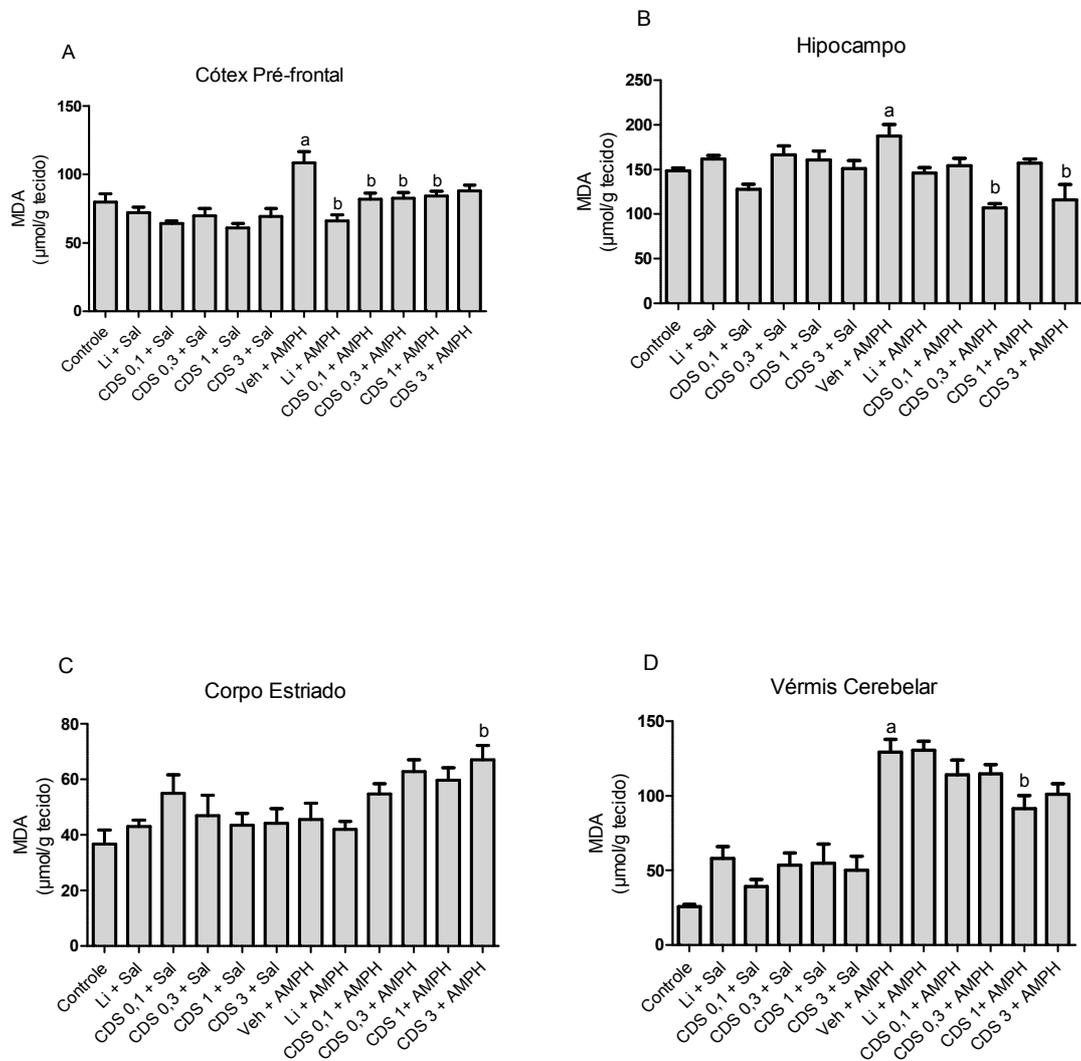


Figura 17 – Níveis de MDA das áreas cerebrais e cerebular no protocolo de Prevenção. As barras representam a média ± erro padrão da média. Em A: córtex pré-frontal; B: hipocampo; C: Corpo Estriado; D: Vérnis Cerebular. (MDA = malonaldeído; Veh = Veículo; Sal = Salina; CDS 0,1 = Candesartana 0,1 mg/Kg/dia; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; CDS 3 = Candesartana 3 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio). ^ap < 0,05 versus grupo Controle; ^bp < 0.05 versus grupo Veh + AMPH de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

Na Reversão, foi observado aumento do conteúdo de MDA pelo tratamento com AMPH em todas as áreas avaliadas quando comparado ao grupo Controle [Córtex pré-frontal: AMPH + Veh ($131,6 \pm 6,079$); Controle ($76,73 \pm 6,095$); Hipocampo: AMPH + Veh ($276,4 \pm 15,58$); Controle ($159,2 \pm 7,816$); Corpo Estriado: AMPH + Veh ($252,2 \pm 15,49$); Controle ($50,39 \pm 3,041$); Vértice Cerebelar AMPH + Veh ($71,52 \pm 6,244$); Controle ($25,79 \pm 1,411$)] (Figura 18).

O lítio reduziu a peroxidação lipídica no córtex pré-frontal e corpo estriado ($p < 0,001$) [Córtex pré-frontal ($83,10 \pm 5,496$); Hipocampo ($253,3 \pm 11,75$); Corpo Estriado ($71,22 \pm 3,645$); Vértice Cerebelar ($55,48 \pm 3,618$)].

Verificou-se que a CDS foi eficaz na redução da peroxidação lipídica em todas as áreas cerebrais avaliadas. No córtex pré-frontal, apenas o grupo AMPH + CDS 0,1 não diferiu do grupo AMPH + Veh, estando os valores de MDA das demais doses de CDS significativamente inferiores ao grupo que recebeu somente AMPH ($p < 0,001$) [AMPH + CDS 0,1 ($108,0 \pm 8,740$); AMPH + CDS 0,3 ($92,00 \pm 4,318$); AMPH + CDS 1 ($87,70 \pm 3,391$); AMPH + CDS 3 ($79,41 \pm 3,685$)]. Da mesma forma que no córtex pré-frontal, no corpo estriado as doses de CDS 0,3 ($p < 0,05$), 1 ($p < 0,001$) e 3 mg/Kg ($p < 0,001$) apresentaram menor peroxidação lipídica quando comparado os níveis de MDA desses grupos com os animais tratados apenas com AMPH [AMPH + CDS 0,1 ($213,5 \pm 13,89$); AMPH + CDS 0,3 ($185,3 \pm 22,71$); AMPH + CDS 1 ($95,18 \pm 6,340$); AMPH + CDS 3 ($124,7 \pm 18,79$)]. No hipocampo, os grupos CDS 0,3 e CDS 3 impediram o aumento de MDA induzido pela AMPH ($p < 0,001$) [AMPH + CDS 0,1 ($229,5 \pm 7,145$); AMPH + CDS 0,3 ($222,6 \pm 9,732$); AMPH + CDS 1 ($247,7 \pm 13,96$); AMPH + CDS 3 ($184,1 \pm 12,10$)]. No vértice cerebelar, ao contrário das demais áreas avaliadas, os grupos AMPH + CDS 0,1 ($p < 0,001$) e AMPH + CDS 0,3 ($p < 0,01$) mostraram níveis elevados de MDA quando comparados ao grupo AMPH + Veh [AMPH + CDS 0,1 ($164,7 \pm 17,43$); AMPH + CDS 0,3 ($133,2 \pm 9,368$); AMPH + CDS 1 ($89,33 \pm 16,36$); AMPH + CDS 3 ($70,63 \pm 15,15$)].

Nenhuma das drogas, lítio ou CDS, administradas sozinhas alteraram os níveis de MDA quando comparado ao Controle.

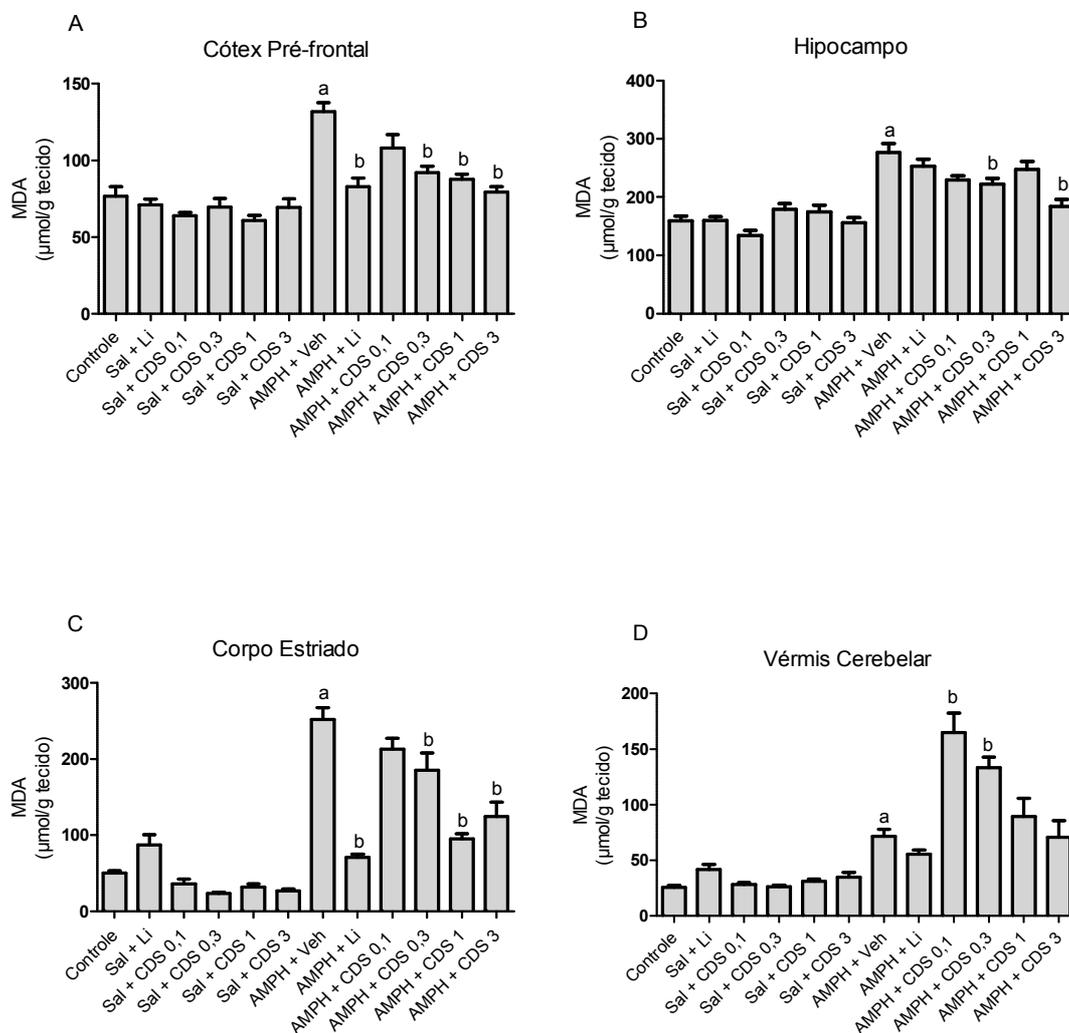


Figura 18 – Níveis de MDA das áreas cerebrais e cerebelar no protocolo de Reversão. As barras representam a média ± erro padrão da média. Em A: córtex pré-frontal; B: hipocampo; C: Corpo Estriado; D: Vérnis Cerebelar. (MDA = malonaldeído; Veh = Veículo; Sal = Salina; CDS 0,1 = Candesartana 0,1 mg/Kg/dia; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; CDS 3 = Candesartana 3 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio). ^ap < 0,05 versus grupo Controle; ^bp < 0,05 versus grupo AMPH + Veh de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

4.5 Avaliação dos parâmetros de neuroplasticidade

4.5.1 BDNF

Em ambos os protocolos de tratamento, verificou-se redução do nível hipocampal de BDNF pela AMPH, sendo os resultados dos grupos Veh + AMPH ($p < 0,001$) e AMPH + Veh ($p < 0,01$) inferiores quando comparado aos grupos Controle [Prevenção: Controle ($1361 \pm 55,02$); Veh + AMPH ($1076 \pm 49,00$); Reversão: Controle ($1335 \pm 52,90$); AMPH + Veh ($1077 \pm 22,86$)] (Figura 19).

O lítio preveniu e reverteu a redução de BDNF induzida pela AMPH, havendo diferença entre os grupos Li + AMPH versus Veh + AMPH ($p < 0,05$) e AMPH + Li versus AMPH + Veh ($p < 0,05$) [Prevenção: Li + AMPH ($1200 \pm 26,24$); Reversão: AMPH + Li ($1350 \pm 27,19$)].

Verificou-se que ambas as doses de CDS avaliadas foram eficazes tanto em prevenir [CDS 0,3 + AMPH versus Veh + AMPH ($p < 0,001$); CDS 1 + AMPH versus Veh + AMPH ($p < 0,01$)] quanto em reverter [AMPH + CDS 0,3 versus AMPH + Veh ($p < 0,01$); AMPH + CDS 1 versus AMPH + Veh ($p < 0,05$)] a redução de BDNF quando comparadas aos grupos tratados apenas com AMPH [Prevenção: CDS 0,3 + AMPH ($1369 \pm 35,70$); CDS 1 + AMPH ($1281 \pm 32,43$); Reversão: AMPH + CDS 0,3 ($1405 \pm 60,09$); AMPH + CDS 1 ($1243 \pm 36,30$)].

4.5.2 Fosfo-Ser9-GSK-3 β

Na prevenção, a AMPH reduziu o nível hipocampal de fosfo-Ser9-GSK-3 β quando comparado ao grupo Controle ($p < 0,001$) [Controle ($290,7 \pm 4,304$); Veh + AMPH ($245,4 \pm 7,959$)]. O tratamento com lítio aumentou a fosforilação da GSK-3 β , sendo os níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β superiores quando comparado ao grupo Veh + AMPH ($p < 0,001$) e ao Controle ($p < 0,01$) [Li + AMPH ($318,9 \pm 9,899$)]. Todas as doses de CDS avaliadas reduziram o nível de fosfo-Ser9-GSK-3 β , sendo os valores inferiores quando comparado ao grupo Controle [CDS 0,3 + AMPH ($261,6 \pm 5,105$) ($p < 0,01$); CDS 1 + AMPH ($210,2 \pm 2,579$) ($p < 0,001$)]. A maior dose de CDS diferiu, ainda, do grupo Veh + AMPH, apresentando menores valores de fosfo-Ser9-GSK-3 β ($p < 0,001$) (Figura 20).

Na reversão, nenhuma diferença foi observada entre os grupos [Controle ($288,2 \pm 4,508$); AMPH + Veh ($307,2 \pm 16,92$); AMPH + Li ($295,1 \pm 6,469$); AMPH + CDS 0,3 ($282,6 \pm 2,800$); AMPH + CDS 1 ($272,4 \pm 7,822$)].

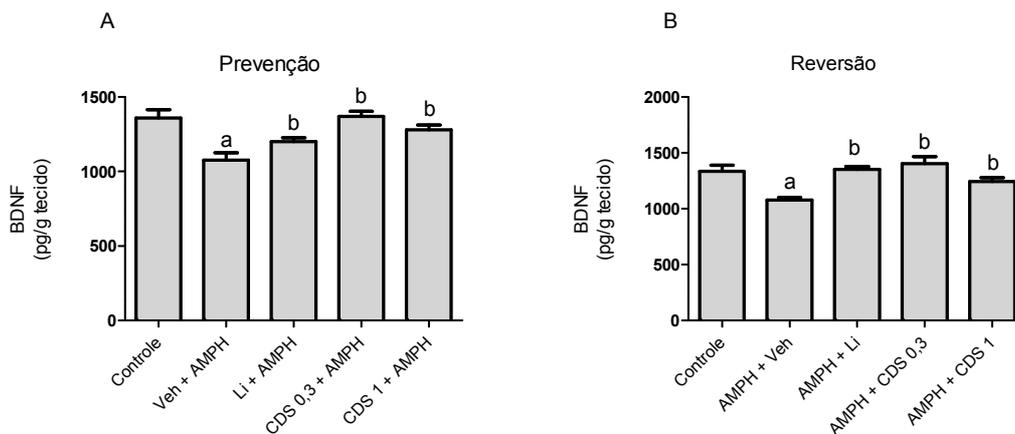


Figura 19 – Níveis de BDNF no hipocampo de animais submetidos ao modelo de mania induzido por AMPH. As barras representam a média \pm erro padrão da média. Em A, protocolo de Prevenção e, em B, protocolo de Reversão. (BDNF = Fator Neurotrófico derivado do cérebro; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio; Veh = Veículo). ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle; ^b $p < 0,05$ versus grupo Veh + AMPH, no protocolo de Prevenção e grupo AMPH + Veh, no protocolo de Reversão de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

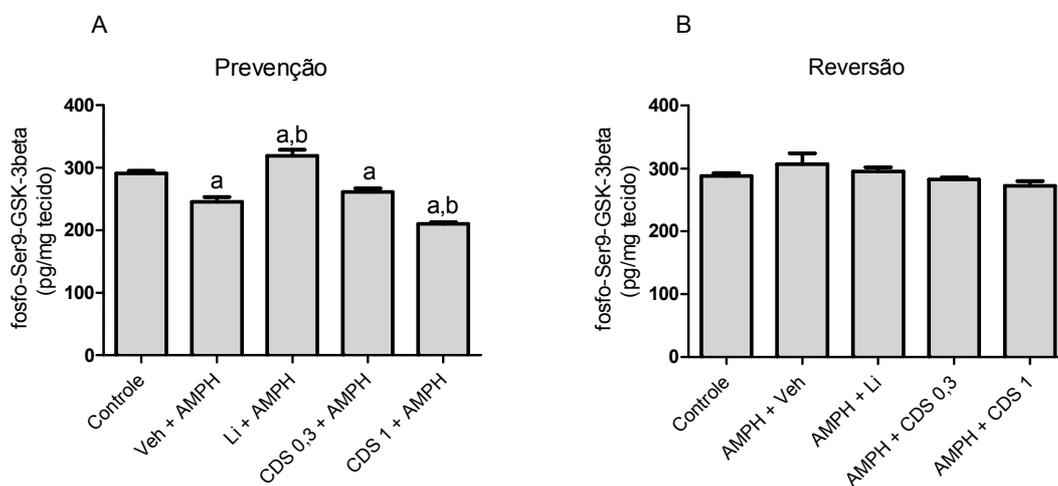


Figura 20 – Níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β no hipocampo de animais submetidos ao modelo de mania induzido por AMPH. As barras representam a média \pm erro padrão da média. Em A, protocolo de Prevenção e, em B, protocolo de Reversão. (BDNF = Fator Neurotrófico derivado do cérebro; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio; Veh = Veículo). ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle; ^b $p < 0,05$ versus grupo Veh + AMPH, no protocolo de Prevenção e grupo AMPH + Veh, no protocolo de Reversão de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

4.6 Avaliação dos níveis de TNF- α

Na prevenção, verificou-se aumento dos níveis hipocámpais de TNF- α pela AMPH quando comparado ao grupo Controle ($p < 0,01$). Os tratamentos com Lítio e com ambas as doses de CDS estudadas foram eficazes em prevenir esse aumento de TNF- α , sendo o resultado do grupo Li + AMPH inferior quando comparado ao grupo Veh + AMPH ($p < 0,05$) e os valores dos grupos CDS 0,3 + AMPH e CDS 1 + AMPH não detectáveis pelo teste realizado (Tabela 3). Na reversão, não houve diferença dos níveis de TNF- α entre os grupos. Entretanto, o grupo AMPH + Li apresentou níveis não detectáveis de TNF- α pelo teste realizado (Tabela 4).

No vérmis cerebelar, tanto na prevenção ($p < 0,01$) quanto na reversão ($p < 0,05$) verificou-se aumento de TNF- α pela AMPH quando comparado ao grupo Controle. O lítio preveniu ($p < 0,05$) e reverteu ($p < 0,001$) esse aumento de TNF- α induzido pela AMPH. Da mesma forma que o lítio, ambas as doses de CDS avaliadas controlaram a alteração desse marcador inflamatório nessa região, diferindo dos grupos tratados apenas com AMPH [*Prevenção*: CDS 0,3 + AMPH ($p < 0,001$); CDS 1 + AMPH ($p < 0,001$) *Reversão*: AMPH + CDS 0,3 ($p < 0,01$); AMPH + CDS 1 ($p < 0,01$)] (Tabelas 3 e 4).

Table 3 – Níveis de TNF- α no hipocampo e vérmis cerebelar de animais submetidos ao protocolo de *Prevenção*

	<i>Hipocampo</i>	<i>Vérmis Cerebelar</i>
TNF- α (pg/g tecido)		
Controle	230.2 \pm 94,87	1284 \pm 64.89
Veh + AMPH	827 ^a \pm 205,9	1981 ^a \pm 271.2
Li + AMPH	226.3 ^b \pm 93,84	1458 ^b \pm 77.72
CDS 0,3 + AMPH	ND	1027 ^b \pm 81.56
CDS 1 + AMPH	ND	859.6 ^b \pm 149.9

Os valores representam a média \pm erro padrão da média. (TNF- α = Fator de Necrose Tumoral; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio; Veh = Veículo; ND = Não detectável). ^ap < 0,05 versus grupo Controle; ^bp < 0.05 05 versus grupo Veh + AMPH de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

Table 4 - Níveis de TNF- α no hipocampo e vérmis cerebelar de animais submetidos ao protocolo de *Reversão*

	<i>Hipocampo</i>	<i>Vérmis Cerebelar</i>
TNF- α (pg/g tecido)		
Controle	156.5 \pm 73.15	1284 \pm 64.89
AMPH + Veh	323.8 \pm 81.02	1536 ^a \pm 93.50
AMPH + Li	ND	1056 ^b \pm 80.09
AMPH + CDS 0,3	164.0 \pm 77.84	1157 ^b \pm 55.78
AMPH + CDS 1	249.1 \pm 115.1	1101 ^b \pm 50.22

Os valores representam a média \pm erro padrão da média (TNF- α = Fator de Necrose Tumoral; CDS 0,3 = Candesartana 0,3 mg/Kg/dia; CDS 1 = Candesartana 1 mg/Kg/dia; AMPH = Anfetamina; Li = Lítio; Veh = Veículo; ND = Não detectável). ^ap < 0,05 versus grupo Controle; ^bp < 0.05 05 versus grupo AMPH + Veh de acordo com a análise de variância, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostram de maneira inédita que a CDS é capaz de prevenir e reverter as alterações comportamentais induzidas pelo modelo de mania por AMPH. Este efeito comportamental foi acompanhado pela prevenção e reversão das alterações nos níveis de GSH, TBARS, BDNF e TNF- α observados pela administração repetida da AMPH, mostrando que o efeito sobre a neuroplasticidade e os efeitos antioxidante e anti-inflamatório deste fármaco são responsáveis, em parte, pelo seu possível efeito antimaníaco.

O estudo de drogas para o tratamento do TAB tem sido de extrema relevância, uma vez que a terapia disponível atualmente apresenta baixa resposta pelos pacientes. Além disso, torna-se imperativa a necessidade de se encontrar drogas que possuam ação positiva sobre a cognição, visto que a maioria dos pacientes com TAB apresentam comprometimento cognitivo, com conseqüente incapacidade funcional e deterioração da qualidade de vida (MORA et al., 2013). Diante dessas evidências, esse trabalho apresenta dados que revelam o potencial da CDS para o tratamento do TAB, devido à sua ação sobre a atividade locomotora e cognição no modelo animal de mania induzido por AMPH.

Os resultados do presente estudo demonstraram, conforme previamente mencionado, que a CDS é eficaz na reversão e prevenção das alterações de hiperlocomção induzidas pela AMPH, indicando que esta droga pode ser importante para o tratamento dos episódios agudos de mania, assim como para o tratamento de manutenção do TAB. Sendo a hiperatividade uma característica determinante da mania e definidora do TAB (YOUNG et al., 2007), esse é o parâmetro avaliado nos modelos animais de mania para validação do efeito antimaníaco de drogas candidatas ao tratamento do TAB. Estudos prévios estabeleceram que os estabilizadores de humor convencionais, tais como Lítio e valproato, são capazes de prevenir e reverter as alterações de hiperlocomção observadas nos animais tratados com AMPH, indicando, assim, a adequada validade preditiva desse modelo (FREY et al., 2006c; VALVASSORI et al., 2010; MACÊDO et al., 2012). Vale ressaltar que, nesse estudo, os resultados de atividade locomotora dos animais que receberam CDS antes e depois da AMPH foram semelhantes aos grupos que receberam lítio e aos grupos controle.

Esse estudo evidencia também o efeito positivo da CDS sobre a cognição. O comprometimento cognitivo observado nos pacientes bipolares, mesmo durante

períodos de remissão dos episódios maníacos e depressivos está associado a uma deterioração na qualidade de vida desses pacientes e a um pior prognóstico da patologia e a terapia farmacológica atual não tem auxiliado nesse processo de neuroprogressão (KAPCZINSKI et al., 2009; LÓPEZ-JARAMILLO et al., 2010; BERK et al., 2011). Nesse pacientes, são encontradas, principalmente, disfunções na função executiva, na memória verbal e na velocidade de processamento (GILDENGERS et al., 2013). Conforme esperado, devido à ação neurotóxica da AMPH (FREY et al., 2006a,b; VALVASSORI et al., 2010), nesse estudo, esse fármaco prejudicou a memória de trabalho dos animais avaliada pelo teste de Y Maze e a CDS foi eficaz na prevenção e reversão desse déficit cognitivo. Esse resultado é altamente relevante, pois fármacos que auxiliam na prevenção do declínio cognitivo de pacientes com TAB tem uma considerável importância clínica (BERK et al., 2011; DODD et al., 2013). Alguns trabalhos são congruentes com esse achado, como o estudo que avaliou a administração de CDS por 14 dias na prevenção do déficit de memória induzido por estreptozotocina administrada ICV em camundongos (TOTA et al., 2009). Além disso, a administração desse fármaco durante a indução de estresse por contenção mostrou que o bloqueio de receptores AT1 neutralizou efetivamente os efeitos deletérios do estresse sobre a memória (BRASZKO et al., 2013). Segundo Yagi e colaboradores (2013), os ARBs parecem ser eficazes na prevenção do declínio cognitivo pela supressão do SRA no hipocampo, área que desempenha papel importante na cognição. Concordando com os autores, foi demonstrado no nosso estudo o efeito neuroprotetor da CDS nessa região cerebral, observado pela redução do estresse oxidativo, da inflamação e pelo aumento de BDNF. Esses dados confirmam a hipótese de que esse fármaco pode representar uma estratégia promissora na prevenção dos déficits cognitivos presentes nos pacientes bipolares.

Estudos pré-clínicos, como na doença de Parkinson (CASTRO et al., 2012) e na doença de Alzheimer (FIORENTINI et al., 2010), mostraram melhora da função cognitiva pelo lítio nesses modelos animais. Além disso, estudos anteriores atribuem ações neuroprotetoras e neurotróficas a esse fármaco no modelo animal induzido por AMPH (FREY et al., 2006a; FREY et al., 2006c; MACÊDO et al., 2012), levando-se, portanto, à expectativa do aprimoramento cognitivo pelo lítio nesse modelo de mania. Entretanto, os resultados desse estudo mostraram que o lítio não foi capaz de reverter nem prevenir o prejuízo cognitivo induzido pela AMPH avaliado pelo teste Y Maze. Esse resultado está de acordo com a visão predominante da psiquiatria clínica, bem

como com os relatos subjetivos de pacientes tratados com lítio, que associam esse fármaco com a perda cognitiva (TSALTAS & KONTIS, 2009). Confirmando esses dados, diversos estudos anteriores relataram pouco ou nenhum efeito do lítio sobre o desempenho cognitivo de pacientes bipolares (ENGELSMANN et al., 1988; LÓPEZ-JARAMILLO et al., 2010; MORA et al., 2013).

Os ARBs, que possuem principal indicação para tratamento da Hipertensão Arterial Sistêmica (ROBLES et al., 2013), tem sido apresentados recentemente como potencialmente relevantes na terapia farmacológica de transtornos neuropsiquiátricos (LIU et al., 2012; QUEIROZ et al., 2013; SAAVEDRA 2013). Essa nova indicação terapêutica proposta para essa classe de fármacos se deve a algumas ações da Ang II que, quando bloqueadas, podem apresentar efeitos neuroprotetores. Dentre essas ações se destacam a ativação de vias pró-inflamatórias (BENICKY et al., 2011), o aumento da produção de EROs (JUNG et al., 2007) e alterações na neuroplasticidade (AGARWAL et al., 2013). Baseando-se nas propriedades neuroprotetoras e neurotróficas da CDS (MERTENS et al., 2011; VILLAPOL et al., 2012; ALHUSBAN et al., 2013), decidimos avaliar o efeito desse fármaco no conteúdo de GSH, uma defesa antioxidante, na peroxidação lipídica, na inflamação e na neuropasticidade de animais submetidos ao modelo animal de mania induzido por AMPH.

Um crescente corpo de evidências tem demonstrado um importante papel do estresse oxidativo na fisiopatologia do TAB (KUNZ et al., 2008; GAWRYLUK et al., 2011; RAFFA et al., 2012). No modelo de mania induzido por AMPH, encontram-se alterações de marcadores de estresse oxidativo em regiões do cérebro implicadas na fisiopatologia desse transtorno, como o hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal, que são prevenidas e revertidas pelo lítio e valproato (FREY et al., 2006c; VALVASSORI et al., 2010; MACÊDO et al., 2012). Evidências mostram que o vérmis cerebelar é uma região que também se encontra alterada em pacientes bipolares, área referida como “cerebelo límbico” por participar do controle de funções afetivas (MILLS et al, 2005; SCHMAHMANN et al., 2007; MONKUL et al, 2008;. BALDAÇARA et al, 2011; XAVIER & FERREIRA, 2012). Apesar de seu envolvimento nessas funções, é uma região que ainda não havia sido estudada em modelos animais de mania e, assim como as demais áreas citadas, esse estudo mostrou que o vérmis cerebelar também apresenta alterações de estresse oxidativo induzidas pela AMPH, além da ocorrência de processo inflamatório.

O mecanismo pelo qual a AMPH aumenta o estresse oxidativo é atribuído ao acúmulo intracelular de DA, predispondo à formação de quinonas, que podem reagir com proteínas e com o DNA. A AMPH pode levar, ainda, ao aumento da formação de EROs por inibir alguns complexos da cadeia transportadora de elétrons nas mitocôndrias, além de induzir apoptose neuronal via ativação de caspases, o que contribui para o aumento da neurotoxicidade (FREY et al., 2006b; VALVASSORI et al., 2010). O déficit de GSH pode estar envolvido com a peroxidação lipídica celular, sendo um possível indicador indireto de danos nas membranas neuronais (DRINGEN & HIRRLINGER, 2003).

A CDS, assim como os estabilizadores de humor lítio e valproato (FREY et al., 2006c; MACÊDO et al., 2012), apresentou efeitos antioxidantes em todas as áreas avaliadas, mostrando prevenir e reverter a depleção de GSH e o aumento da peroxidação lipídica induzidos pela AMPH. Alguns estudos referentes ao potencial antioxidante dos ARBs corroboram esses achados, mostrando, igualmente, que a administração de CDS reduziu o produto de peroxidação lipídica, o MDA, além de ter restaurado os níveis de GSH cerebral (OZACMAK et al., 2007; TOTA et al., 2009). A ação antioxidante dos ARBs é consequência do bloqueio da ligação da Ang II aos receptores AT1 que ativam a enzima NOX (JUNG et al., 2007). A NOX tem um papel central na ocorrência de estresse oxidativo, uma vez que utiliza o NADH e/ou NADPH como substrato para a produção de ânions superóxido (GRIENDLING et al., 2000). O O₂ serve como acceptor fisiológico para a família das enzimas NOX para produção primária de EROs, ação com papel fisiológico e adaptativo importantes, principalmente na defesa do hospedeiro contra patógenos invasores e na sinalização celular. No entanto, existem evidências crescentes de que essa enzima contribui para a patogênese de uma série de doenças (BERNARD et al., 2013), incluindo ansiedade e depressão (GARD et al., 2004; LIU et al., 2012). Estudos mostram que os ARBs diminuem a expressão da NOX e a atividade dessa enzima e, conseqüentemente, reduzem a geração de EROs (SAIOTH et al, 2010;. PANG et al, 2012). Outro estudo reforça esse efeito antioxidante desses fármacos ao mostrar que o tratamento com CDS diminuiu a expressão das subunidades gp91phox e p22phox, componentes da enzima NOX presente na membrana celular (SHAO et al., 2006). Portanto, é possível que o bloqueio de receptores AT1 pela CDS tenha levado a uma menor liberação de EROs secundária à administração de AMPH, havendo menor dano às membranas celulares e, conseqüentemente, menor peroxidação lipídica e produção de MDA. Além disso, a menor produção de EROs pode

ter levado à redução do consumo de defesas antioxidantes e, conseqüentemente, o consumo celular de GSH foi menor.

Nesse estudo, avaliou-se ainda se o efeito da CDS na redução da hiperlocomoção induzida pela AMPH poderia estar relacionado com alterações de neuroplasticidade no hipocampo. O hipocampo é uma das regiões cerebrais dos mamíferos que retêm, durante a vida pós-natal, a capacidade de gerar novos neurônios e, em roedores, a neurogênese hipocampal é altamente dinâmica (BOUCHARDCANNON et al., 2013), sendo, portanto, a área cerebral mais amplamente estudada para avaliação das alterações de neuroplasticidade. O BDNF é uma neurotrofina que apresenta papel central na plasticidade sináptica e neurogênese e alguns estudos tem sugerido redução dessa neurotrofina durante as alterações de humor em pacientes bipolares quando comparado a indivíduos saudáveis. Além disso, estudos revelam que os níveis de BDNF reduzem com a idade e progressão da doença, sendo normalizados após tratamento com estabilizadores de humor (CUNHA et al., 2006; MACKIN et al., 2007; KAUER-SANT'ANNA et al., 2009; FERNADES et al., 2011). Assim como nos estudos clínicos, que mostram o envolvimento de alterações dos níveis de BDNF na fisiopatologia do TAB, no modelo animal de mania induzido por AMPH essa neurotrofina também encontra-se reduzida no córtex pré-frontal e hipocampo dos animais. Além disso, esses estudos mostram efeito de estabilizadores de humor em restaurar os níveis de BDNF para valores semelhantes aos dos animais controle (FREY et al., 2006a; MACÊDO et al., 2012). De fato, nosso estudo verificou redução dos níveis hipocampais de BDNF pela AMPH e tanto a CDS quanto o lítio foram eficazes em prevenir e reverter a alteração dessa neurotrofina. Reforçando esses dados, trabalhos anteriores utilizando roedores mostraram efeito neuroprotetor de bloqueadores de receptores AT1 em modelos de hipertensão arterial e isquemia cerebral pelo aumento da expressão de BDNF e seu receptor TrkB (KRIKOV et al., 2008; KISHI et al., 2012).

A GSK-3 β é constitutivamente ativa e apresenta papel importante na regulação de múltiplos alvos, como fatores de transcrição, enzimas e proteínas do citoesqueleto (KOCKERITZ et al, 2006). Com isso, essa proteína quinase pode alterar a plasticidade neuronal, modulando a arquitetura celular, a neurogênese, a expressão gênica e a habilidade dos neurônios em responder ao estresse (JOPE & ROH, 2006). A participação da GSK-3 β na fisiopatologia do TAB tem recebido atenção nos últimos anos, em particular pelo efeito do lítio na regulação da sua atividade (PRICKAERTS et al., 2006; O'BRIEN & KLEIN, 2009; LI et al., 2010; BENEDETTI et al., 2013). A

atividade da GSK-3 β é regulada, principalmente, pela fosforilação do resíduo de serina (Ser-9) na porção N-terminal da molécula, inibindo sua atividade, enquanto a fosforilação do resíduo de tirosina (Tyr-216) ativa essa proteína (FORDE & DALE, 2007). O lítio pode inibir a GSK-3 β tanto diretamente, por competir com o magnésio quanto indiretamente, levando ao aumento da fosforilação do resíduo de serina (JOPE, 1999). Dados clínicos mostram que o nível de fosfo-Ser9-GSK-3 β em pacientes bipolares tratados com lítio é maior que controles saudáveis (LI et al., 2007; LI et al., 2010). O presente estudo revelou, de fato, que o tratamento com lítio por 14 dias no protocolo de prevenção aumentou os níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β comparado com o tratamento com AMPH, sendo maior também que dos animais controle. No protocolo de prevenção, a AMPH reduziu os níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β , o que também foi demonstrado por um estudo realizado recentemente, onde esse fármaco aumentou o nível total de GSK-3 β e reduziu os níveis de fosfo-Ser9-GSK-3 β (CECHINEL-RECCO et al., 2012). A inativação da GSK-3 β não foi aumentada pela CDS e foi, ainda, reduzida pela maior dose desse fármaco no protocolo de prevenção quando comparado ao tratamento com AMPH. Agarwal e colaboradores (2013) reportaram recentemente um pequeno, mas significativo aumento da fosforilação da GSK-3 β (Ser-9) e um expressivo aumento da fosforilação da GSK-3 β (Tyr-216) em células neuronais expostas a Ang II, sugerindo a ativação dessa proteína quinase pela Ang II. Dessa forma, a CDS pode ter reduzido a ativação da GSK-3 β ao bloquear a Ang II. Entretanto, estudos futuros que revelam a taxa de fosforilação da GSK-3 β -(Tyr-216) pela fosforilação da GSK-3 β -(Ser-9) são necessários para avaliar o efeito da CDS sobre a atividade dessa proteína quinase.

Devido à influência do TNF- α na neuroplasticidade, resiliência celular e sobrevivência neuronal (BRIETZKE & KAPCZINSKI, 2008), decidimos, nesse estudo, avaliar se o tratamento com AMPH levaria ao aumento dessa citocina, contribuindo para o efeito neurotóxico desse fármaco. Uma série de evidências apontam para o envolvimento de anormalidades imunológicas na fisiopatologia do TAB (CUNHA et al., 2008; KAUER-SANT'ANNA et al., 2009; BRIETZKE et al., 2009; BARBOSA et al., 2013), o que, provavelmente, relaciona esse transtorno às comorbidades, principalmente, cardiovasculares (HAMDANI et al., 2013). Estudos clínicos demonstraram aumento de TNF- α em pacientes bipolares durante episódios maníacos e depressivos (O'BRIEN et al., 2006; KIM et al., 2007). O TNF- α leva ao aumento de processos apoptóticos pelo aumento da atividade da caspase-8 e caspase-3, aumento da

ativação do NFκB e da excitotoxicidade glutamatérgica, o que pode justificar a perda neuronal e glial observada nos pacientes bipolares (MACDONALD et al., 2003; BRIETZKE & KAPCZINSKI, 2008). Entretanto, nenhum estudo havia mostrado ainda a presença de processo inflamatório em modelos animais de mania, sendo o nosso trabalho o primeiro a mostrar a ocorrência de alterações nos níveis de TNF-α no modelo de mania induzido por AMPH. Nesse estudo, o tratamento com AMPH levou ao aumento de TNF-α em ambas as áreas avaliadas, o que, provavelmente, contribuiu para as alterações comportamentais induzidas pela AMPH. A CDS, da mesma forma que o lítio, apresentou atividade imunomodulatória demonstrada pela redução dos níveis de TNF-α. De fato, vários estudos destacam efeito anti-inflamatório do lítio. Esse fármaco inibe a ativação da via GSK-3β/NFκB, levando à redução da inflamação (WANG et al., 2013), além de reduzir a expressão de muitos genes que ativam vias pró-inflamatórias (PADMOS et al., 2008). Em pacientes bipolares, existe uma correlação inversa entre o nível de TNF-α e a resposta ao lítio (GULOKSUZ et al., 2012) e esses pacientes, quando em tratamento com lítio, mostram normalização de parâmetros inflamatórios (BOUFIDOU et al., 2004). Da mesma forma, recentemente, foi mostrado efeito anti-inflamatório da CDS pela redução da expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias e seus receptores em áreas cerebrais envolvidas na emoção, cognição e memória (BENICKY et al., 2011), o que pode explicar, nesse estudo, a redução de TNF-α pela administração de CDS.

A via TNF-α/NFκB presente nas células neuronais parece desempenhar papel importante na regulação da excitabilidade neuronal e na vulnerabilidade à excitotoxicidade, principalmente no hipocampo (BRIETZKE et al., 2011). Interessantemente, nesse estudo, o aumento de TNF-α coincidiu com a diminuição de BDNF e da fosfo-Ser9-GSK-3β no hipocampo após o tratamento com AMPH. Além disso, tanto o lítio quanto a CDS reduziram os níveis dessa citocina, ao mesmo tempo em que restauraram os níveis de BDNF e o lítio aumentou, ainda, a fosfo-Ser9-GSK-3β no hipocampo.

Além dos parâmetros avaliados nesse estudo, outros aspectos poderiam justificar o efeito antimaníaco da CDS no modelo de mania induzido por AMPH. O primeiro deles refere-se à disfunção mitocondrial. Sabe-se que em pacientes com TAB e no modelo de mania induzido por AMPH observa-se a presença de disfunção mitocondrial, o que leva à perda da função e plasticidade neuronal (STECKERT et al., 2010; VALVASSORI et al., 2010). Portanto, vale destacar o efeito da CDS sobre a

manutenção da função mitocondrial. Apesar de ainda não ter sido avaliado o efeito dos ARBs sobre a função mitocondrial especificamente das células do cérebro, possivelmente, esse pode ter sido um mecanismo que contribuiu para o efeito neuroprotetor da CDS nesse modelo animal de mania, uma vez que esse fármaco foi capaz de preservar a função mitocondrial de células renais em animais espontaneamente hipertensos (DE CAVANAGH et al., 2005). A função mitocondrial preservada implica em manutenção do metabolismo energético neuronal adequado e, conseqüentemente, menor risco de dano celular e alterações de funções cognitivas e comportamentais características do TAB (STECKERT et al., 2010).

Adicionalmente, nos últimos anos, a PKC tem sido apresentada como um papel chave na mania (CECHINEL-RECCO et al., 2012). Através da fosforilação de uma grande variedade de substratos, a PKC é capaz de modular uma multiplicidade de funções neuronais, como a síntese e liberação de neurotransmissores, a expressão gênica e a regulação de receptores e canais iônicos. Fármacos inibidores da PKC atenuam a hiperlocomoção induzida pela AMPH, apoiando a eficácia do bloqueio da PKC na mania aguda (ABRIAL et al., 2011; ABRIAL et al., 2013). Vale destacar aqui os estudos que mostram que a ativação de receptores AT1 pela Ang II levam à ativação da PKC e que, adicionalmente, o bloqueio desses receptores pelos ARBs diminuem a atividade dessa enzima (SIMONIS et al., 2003; SAITOH et al., 2010), podendo ser um dos mecanismos que contribuíram para o efeito antimaníaco da CDS nesse modelo animal estudado.

Por fim, sabe-se que a AMPH, assim como outras drogas de abuso, induzem à ativação do eixo HPA, com posterior liberação de ACTH e glicocorticoides, sendo o aumento significativo e de forma dose-dependente (ARMARIO, 2010). Esse eixo encontra-se alterado em um importante número de processos fisiopatológicos e psicopatológicos, incluindo o TAB, sendo observado aumento dos níveis séricos de glicocorticoides nos pacientes bipolares (PFAFFENSELLER et al., 2013). A ativação do receptor AT1 leva à síntese e liberação de CRF, levando à liberação de ACTH e à síntese de glicocorticoides (ARMANDO et al., 2007). Da mesma forma, a ativação do eixo HPA pela AMPH parece também envolver o aumento da liberação de CRF e glicocorticoides (SWERDLOW et al., 1993). Essas evidências sugerem que, com o bloqueio de receptores AT1 pela CDS, provavelmente a liberação de CRF induzida pela AMPH foi menor, diminuindo os níveis de glicocorticoides e, conseqüentemente, os

danos celulares induzidos por esse hormônio, o que pode ter contribuído para o efeito antimaníaco e neuroprotetor da CDS nesse modelo animal.

As observações e os resultados discutidos nesse trabalho sugerem que o bloqueio de receptores AT1 foi capaz de reduzir a neurotoxicidade induzida pela AMPH no modelo animal de mania. Os dados indicam que os efeitos pleiotrópicos da CDS sobre o estresse oxidativo (aumento de GSH e redução de MDA), neuroinflamação (redução de TNF- α) e neuroplasticidade (aumento de BDNF) contribuíram para a ação desse fármaco sobre a atividade locomotora e desempenho cognitivo dos animais nos testes comportamentais. Estudos posteriores poderiam ser desenvolvidos para investigar o efeito da CDS sobre a função mitocondrial e atividade da PKC no modelo de mania induzido por AMPH, contribuindo para uma maior compreensão dos mecanismos envolvidos no efeito antimaníaco desse fármaco.

Além disso, existe uma forte correlação entre o TAB e a ocorrência de comorbidades médicas, como doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus*, obesidade, hipertensão e dislipidemia (MCINTYRE et al., 2007; GOMES et al., 2013). A CDS tem sido mostrada como altamente eficaz no tratamento da hipertensão, insuficiência cardíaca, insuficiência renal e diabetes *mellitus* (GLEITER et al., 2004; ROBLES et al., 2013), o que sugere, portanto, que o uso desse fármaco como adjuvante no tratamento do TAB poderia favorecer o prognóstico dos pacientes, uma vez atuando preventivamente nas mudanças de humor e no desenvolvimento de comorbidades.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que a CDS, assim como o lítio, apresenta importantes efeitos no modelo de mania induzido por AMPH. Além disso, a CDS parece contemplar ações sobre os principais aspectos fisiopatológicos do TAB, ao mesmo tempo em que mostrou efeitos positivos sobre a cognição. Dessa forma, o bloqueio de receptores AT1 pode representar uma nova abordagem para o tratamento do TAB, visto que a CDS apresentou efeito antimaníaco, levou ao aprimoramento cognitivo e foi capaz de reduzir a neurotoxicidade no modelo de mania induzido por AMPH. Uma vez que esse fármaco apresenta um perfil de alta tolerabilidade em humanos, sugere-se que ensaios clínicos sejam desenvolvidos para avaliação dos possíveis efeitos antimaníacos da CDS em pacientes bipolares, porém é necessário que se realizem mais estudos pré-clínicos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRIAL, E.; ETIEVANT, A.; BÉTRY, C.; SCARNA, H.; LUCAS, G.; HADDJERI, N.; LAMBÁS-SEÑAS, L. Protein kinase C regulates mood-related behaviors and adult hippocampal cell proliferation in rats. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.**, v. 43, p. 40-48, 2013.

ABRIAL, E.; LUCAS, G.; SCARNA, H.; HADDJERI, N.; LAMBÁS-SEÑAS, L. A role for the PKC signaling system in the pathophysiology and treatment of mood disorders: involvement of a functional imbalance? **Mol Neurobiol.**, v. 44, n. 3, p. 407-419, 2011.

AGARWAL, D.; DANGE, R. B.; RAIZADA, M. K.; FRANCIS, J. Angiotensin II causes imbalance between pro- and anti-inflammatory cytokines by modulating GSK-3 β in neuronal culture. **Br J Pharmacol.**, v. 169, n. 4, p. 860-874, 2013.

ALHUSBAN, A.; KOZAK, A.; ERGUL, A.; FAGAN, S. C. AT1 receptor antagonism is proangiogenic in the brain: BDNF a novel mediator. **J Pharmacol Exp Ther.**, v. 344, n. 2, p. 348-359, 2013.

AKISKAL, H. S.; PINTO, O. The evolving bipolar spectrum. Prototypes I, II, III, and IV. **Psychiatr Clin North Am.**, v. 22, n. 3, p. 517-534, 1999.

ANDREAZZA, A. C.; CASSINI, C.; ROSA, A. R.; LEITE, M. C.; DE ALMEIDA, L. M.; NARDIN, P.; CUNHA, A. B.; CERESÉR, K. M.; SANTIN, A.; GOTTFRIED, C.; SALVADOR, M.; KAPCZINSKI, F.; GONÇALVES, C. A. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. **J. Psychiatr. Res.**, v. 41, n. 6, p. 523-529, 2007.

ANDREAZZA, A. C.; KAUER-SANT'ANNA, M.; FREY, B. N.; STERTZ, L.; ZANOTTO, C.; RIBEIRO, L.; GIASSON, K.; VALVASSORI, S. S.; RÉUS, G. Z.; SALVADOR, M.; QUEVEDO, J.; GONÇALVES, C. A.; KAPCZINSKI, F. Effects of mood stabilizers on DNA damage in an animal model of mania. **J Psychiatry Neurosci.**, v. 33, n. 6, p. 516-524, 2008.

ANTYPA, N.; ANTONIOLI, M.; SERRETTI, A. Clinical, psychological and environmental predictors of prospective suicide events in patients with Bipolar Disorder. **J Psychiatr Res.**, p. 1-9, 2013.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim Behav.**, v. 21, p. 205-235, 1973.

ARMANDO, I.; VOLPI, S.; AGUILERA, G.; SAAVEDRA, J.M. Angiotensin II AT1 receptor blockade prevents the hypothalamic corticotropin- releasing factor response to isolation stress. **Brain Res.**, v. 1142, p. 92-99, 2007.

ARMANI, F.; ANDERSEN, M. L.; ANDREATINI, R.; FRUSSA-FILHO, R.; TUFIK, S.; GALDURÓZ, J. C. Successful combined therapy with tamoxifen and lithium in a

paradoxical sleep deprivation-induced mania model. **CNS Neurosci Ther.**, v. 18, n. 2, p. 119-125, 2012.

ARMARIO, A. Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by addictive drugs: different pathways, common outcome. **Trends Pharmacol Sci.**, v. 31, n. 7, p. 318-325, 2010.

BADER, M. Tissue renin-angiotensin-aldosterone systems: targets for pharmacological therapy. **Ann Rev Pharm Tox.**, v. 50, p. 439-465, 2010.

BALDAÇARA, L.; BORGIO, J. G.; LACERDA, A. L.; JACKOWSKI, A. P. Cerebellum and psychiatric disorders. **Rev Bras Psiquiatr.**, v. 30, n. 3, p. 281-289, 2008.

BALDAÇARA, L.; NERY-FERNANDES, F.; ROCHA, M.; QUARANTINI, L. C.; ROCHA, G. G.; GUIMARÃES, J. L.; ARAÚJO, C.; OLIVEIRA, I.; MIRANDA-SCIPPA, A.; JACKOWSKI, A. Is cerebellar volume related to bipolar disorder? **J Affect Disord.**, v. 135, n. 1-3, p. 305-309, 2011

BARBOSA, I. G.; ROCHA, N. P.; BAUER, M. E.; DE MIRANDA, A. S.; HUGUET, R. B.; REIS, H. J.; ZUNSZAIN, P. A.; HOROWITZ, M. A.; PARIANTE, C. M.; TEIXEIRA, A. L. Chemokines in bipolar disorder: trait or state? **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.**, v. 263, n. 2, p.159-65, 2013.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BEAULIEU, J. M.; ZHANG, X.; RODRIGUIZ, R. M.; SOTNIKOVA, T. D.; COOLS, M. J.; WETSEL, W. C.; GAINETDINOV, R. R.; CARON, M. G. Role of GSK3 beta in behavioral abnormalities induced by serotonin deficiency. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 105, n. 4, p. 1333-1338, 2008.

BECKER, C.; ZEAU, B.; RIVAT, C.; BLUGEOT, A.; HAMON, M.; BENOLIEL, J. J. Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystokinin. **Mol Psychiatry.**, v. 13, n. 12, p. 1079-1092, 2008.

BENEDETTI, F.; BOLLETTINI, I.; BARBERI, I.; RADAELLI, D.; POLETTI, S.; LOCATELLI, C.; PIROVANO, A.; LORENZI, C.; FALINI, A.; COLOMBO, C.; SMERALDI, E. Lithium and GSK3- β promoter gene variants influence white matter microstructure in bipolar disorder. **Neuropsychopharmacology**, v. 38, n. 2, p. 313-327, 2013.

BENICKY, J.; SÁNCHEZ-LEMUS, E.; HONDA, M.; PANG, T.; ORECNA, M.; WANG, J.; LENG, Y.; CHUANG, D. M.; SAAVEDRA, J. M. Angiotensin II AT1 receptor blockade ameliorates brain inflammation. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 4, p. 857-870, 2011.

BERRA, C. M.; MENCK, C. F. M.; DI MASCIO, P. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. **Quím Nova**, v. 29, n. 6, p. 1340-1344, 2006.

BERK, M.; BERK, L.; DODD, S.; COTTON, S.; MACNEIL, C.; DAGLAS, R.; CONUS, P.; BECHDOLF, A.; MOYLAN, S.; MALHI, G. S. Stage managing bipolar disorder. **Bipolar Disord**. 2013.

BERK, M.; KAPCZINSKI, F.; ANDREAZZA, A. C.; DEAN, O. M.; GIORLANDO, F.; MAES, M.; YÜCEL, M.; GAMA, C. S.; DODD, S.; DEAN, B.; MAGALHÃES, P. V.; AMMINGER, P.; MCGORRY, P.; MALHI, G. S. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. **Neurosci Biobehav Rev.**, v. 5, n. 3, p.804-817, 2011.

BERNARD, K.; HECKER, L.; LUCKHARDT, T. R.; CHENG, G.; THANNICKAL, V. J. NADPH Oxidases in Lung Health and Disease. **Antioxid Redox Signal.**, p. 1-60, 2013.

BOUCHARD-CANNON, P.; MENDOZA-VIVEROS, L.; YUEN, A.; KAREN, M.; CHENG, H. Y. The Circadian Molecular Clock Regulates Adult Hippocampal Neurogenesis by Controlling the Timing of Cell-Cycle Entry and Exit. **Cell Rep.**, 2013.

BOUFIDOU, F.; NIKOLAOU, C.; ALEVIZOS, B.; LIAPPAS, I. A.; CHRISTODOULOU, G. N. Cytokine production in bipolar affective disorder patients under lithium treatment. **J Affect Disord.**, v. 82, n. 2, p. 309-313, 2004.

BOURIN M, PRICA C. The role of mood stabilisers in the treatment of the depressive facet of bipolar disorders. **Neurosci Biobehav Rev.**, v. 31, n. 6, p. 963-975, 2007.

BRASZKO, J. J.; WINCEWICZ, D.; JAKUBÓW, P. Candesartan prevents impairment of recall caused by repeated stress in rats. **Psychopharmacology**, v. 225, n. 2, p. 421-428, 2013.

BRIETZKE, E.; KAPCZINSKI, F. TNF-alpha as a molecular target in bipolar disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 32, n. 6, p. 1355-1361, 2008.

BRIETZKE, E.; KAUER-SANT'ANNA, M.; TEIXEIRA, A. L.; KAPCZINSKI, F. Abnormalities in serum chemokine levels in euthymic patients with bipolar disorder. **Brain Behav Immun.**, v. 23, n.8, p. 1079-82, 2009.

BRIETZKE, E.; STABELLINI, R.; GRASSIS-OLIVEIRA, R.; LAFER, B. Cytokines in Bipolar Disorder: Recent Findings, Deleterious Effects But Promise for Future Therapeutics. **CNS Spectr.**, 2011.

CAMPOS, R. N.; CAMPOS, J. A. D. O.; SANCHES, M. A evolução histórica dos conceitos de transtorno de humor e transtorno de personalidade: problemas no diagnóstico diferencial. **Rev Psiquiatr Clín**, v. 37, n. 4, p. 162-6, 2010.

CASTELLON, R.; HAMDI, H. K. Demystifying the ACE polymorphism: from genetics to biology. **Curr Pharm Des.**, v. 13, n. 12, p. 1191-1198, 2007.

CASTRO, A. A.; GHISONI, K.; LATINI, A.; QUEVEDO, J.; TASCA, C. I.; PREDIGER, R. D. Lithium and valproate prevent olfactory discrimination and short-term memory impairments in the intranasal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) rat model of Parkinson's disease. **Behav Brain Res.**, v. 229, n. 1, p. 208-15, 2012.

CAT, A. N. D.; TOUYZ, R. M. Cell signaling of angiotensin II on vascular tone: novel mechanisms. **Curr Hypertens Rep.**, v. 13, n. 2, p. 122-128, 2011.

CATALDO, A. M.; MCPHIE, D. L.; LANGE, N. T.; PUNZELL, S.; ELMILIGY, S.; YE, N. Z.; FROIMOWITZ M. P.; HASSINGER, L. C.; MENESALE, E. B.; SARGENT, L. W.; LOGAN, D. J.; CARPENTER, A. E.; COHEN, B. M. Abnormalities in mitochondrial structure in cells from patients with bipolar disorder. **Am J Pathol.**, v. 177, n. 2, p. 575-585, 2010.

CECHINEL-RECCO, K.; VALVASSORI, S. S.; VARELA, R. B.; RESENDE, W. R.; ARENT, C. O.; VITTO, M. F.; LUZ, G.; DE SOUZA, C. T.; QUEVEDO, J. Lithium and tamoxifen modulate cellular plasticity cascades in animal model of mania. **J Psychopharmacol.**, v. 26, n. 12, p. 1594-1604, 2012.

CERNES, R.; MASHAVI, M.; ZIMLICHMAN, R. Differential clinical profile of candesartan compared to other angiotensin receptor blockers. **Vascular Health and Risk Management.**, v. 7, p. 749-759, 2011.

CHIU, C. T.; WANG, Z.; HUNSBERGER, J. G.; CHUANG, D. M. Therapeutic potential of mood stabilizers lithium and valproic acid: beyond bipolar disorder. **Pharmacol Rev.**, v. 65, n. 1, p. 105-142, 2013.

CIULLA, L.; NOGUEIRA, E. L.; DA SILVA FILHO, I. G.; TRES, G. L., ENGROFF, P.; CIULLA, V.; CATALDO NETO, A. Suicide risk in the elderly: Data from Brazilian public health care program. **J Affect Disord.**, 2013.

CUNHA, A. B.; ANDREAZZA, A. C.; GOMES, F. A.; FREY, B. N.; SILVEIRA, L. E.; GONÇALVES, C. A.; KAPCZINSKI, F. Investigation Of Serum High-Sensitive C-Reactive Protein Levels Across All Mood States In Bipolar Disorder European. **Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 258, n. 5, p. 300-304, 2008.

CUNHA, A. B.; FREY, B. N.; ANDREAZZA, A. C.; GOI, J. D.; ROSA, A. R.; GONÇALVES, C. A.; SANTIN, A.; KAPCZINSKI, F. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. **Neuroscience Letters**, v. 398, n. 3, p. 215-219, 2006.

DAVIES, N. M.; KEHOE, P. G.; BEN-SHLOMO, Y.; MARTIN, R. M. Associations of anti-hypertensive treatments with Alzheimer's disease, vascular dementia, and other dementias. **J Alzheimer's Dis.**, v. 26, n. 4, p. 699-708, 2011.

DE CAVANAGH, E. M.; TOBLLI, J. E.; FERDER, L.; PIOTRKOWSKI, B.; STELLA, I.; FRAGA, C. G.; INSERRA, F. Angiotensin II blockade improves mitochondrial function in spontaneously hypertensive rats. **Cell Mol Biol.**, v. 51, n. 6, p. 573-578, 2005.

DE GASPARO, M.; CATT, K. J.; INAGAMI, T.; WRIGHT, J. W.; UNGER, T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. **Pharmacol Ver.**, v. 52, n. 3, p. 415-472, 2000.

DEVASAGAYAM, T. P.; BOLOOR, K. K.; RAMASARMA, T. Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. **Indian J Biochem Biophys.**, v. 40, n. 5, p. 300-308, 2003.

DODD, S.; MAES, M.; ANDERSON, G.; DEAN, O. M.; MOYLAN, S.; BERK, M. Putative neuroprotective agents in neuropsychiatric disorders. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 42, p. 135-145, 2013.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods Enzymol.**, v. 186, p. 421-431, 1990.

DRAPER, H. H.; SQUIRES, E. J.; MAHMOODI, H.; WU, J.; AGARWAL, S.; HADLEY, M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. **Free Radic Biol Med**, v. 15, n. 4, p. 353-363, 1993.

DRINGEN, R.; HIRRLINGER, J. Glutathione pathways in the brain. **Biol Chem.**, v. 384, n. 4, p. 505-516, 2003.

ELLIOTT, J. M.; BEVERIDGE, T. J. Psychostimulants and monoamine transporters: upsetting the balance. **Curr. Opin. Pharmacol.**, v. 5, n. 1, p. 94-100, 2005.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Arch Biochem Biophys**, v. 82, p. 70-77, 1959.

EL-MALLAKH, R. S.; EL-MASRI, M. A.; HUFF, M. O.; LI, X. P.; DECKER, S.; LEVY, R. S. Intracerebroventricular administration of ouabain as a model of mania in rats. **Bipolar Disord.**, v. 5, n. 5, p. 362-365, 2003.

EMBI, N.; RYLATT, D. B.; COHEN, P. Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle. Separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase. **Eur J Biochem.**, v. 107, n. 2, p. 519-527, 1980.

ENGELSMANN, F.; KATZ, J.; GHADIRIAN, A. M.; SCHACHTER, D. Lithium and memory: a long-term follow-up study. **J Clin Psychopharmacol.**, v. 8, n. 3, p. 207-212, 1988.

FIorentini, A.; ROSI, M. C.; GROSSI, C.; LUCCARINI, I.; CASAMENTI, F. Lithium improves hippocampal neurogenesis, neuropathology and cognitive functions in APP mutant mice. **PLoS One**, v. 5, n. 12, 2010.

FERNANDES, B. S.; GAMA, C. S.; CERESÉR, K. M.; YATHAM, L. N.; FRIES, G. R.; COLPO, G.; DE LUCENA, D.; KUNZ, M.; GOMES, F. A.; KAPCZINSKI, F. Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: a systematic review and meta-regression analysis. **J Psychiatr Res.**, v. 45, n. 8, p. 995-1004, 2011.

FLECKENSTEIN, A. E.; VOLZ, T. J.; RIDDLE, E. L.; GIBB, J. W.; HANSON, G. R. New insights into the mechanism of action of amphetamines. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.**, v. 47, p. 681-698, 2007.

FORDE, J. E.; DALE, T. C. Glycogen synthase kinase 3: a key regulator of cellular fate. **Cell Mol Life Sci.**, v. 64, n. 15, p. 1930-1944, 2007

FRANGO S. Functional neuroimaging in mood disorders. **Psychiatry**, v. 5, n. 5, p. 176-179, 2006.

FREY, B. N.; ANDREAZZA, A. C.; CERESÉR, K. M.; MARTINS, M. R.; VALVASSORI, S. S.; RÉUS, G. Z.; QUEVEDO, J.; KAPCZINSKI, F.. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. **Life Sciences**, v. 79, n. 3, p. 281–286, 2006a.

FREY, B. N.; ANDREAZZA, A. C.; HOUENOU, J.; JAMAIN, S.; GOLDSTEIN, B. I.; FRYE, M. A.; LEBOYER, M.; BERK, M.; MALHI, G. S.; LOPEZ-JARAMILLO, C.; TAYLOR, V. H.; DODD, S.; FRANGO, S.; HALL, G. B.; FERNANDES, B. S.; KAUER-SANT'ANNA, M.; YATHAM, L. N.; KAPCZINSKI, F.; YOUNG, L. T. Biomarkers in bipolar disorder: a positional paper from the International Society for Bipolar Disorders Biomarkers Task Force. **Aust N Z J Psychiatry.**, v.47, n. 4, p. 321-332, 2013.

FREY, B. N.; MARTINS, M. R.; PETRONILHO, F. C.; DAL-PIZZOL, F.; QUEVEDO, J.; KAPCZINSKI, F. Increased oxidative stress after repeated amphetamine exposure: possible relevance as a model of mania. **Bipolar Disord.**, v. 8, n. 3, p. 275-280, 2006b.

FREY, B. N.; VALVASSORI, S. S.; RÉUS, G. Z.; MARTINS, M. R.; PETRONILHO, F. C.; BARDINI, K.; DAL-PIZZOL, F.; KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. **J Psychiatry Neurosci.**, v. 31, n. 5, p. 326-332, 2006c.

FRIEDMAN, J. N.; HURLEY, R. A.; TABER, K. H. Bipolar disorder: imaging state versus trait. *J Neuropsychiatry*. **Clin Neurosci.**, v. 18, n. 3, p. 296-301, 2006.

FUKUMOTO, T.; MORINOBU, S.; OKAMOTO, Y.; KAGAYA, A.; YAMAWAKI, S. Chronic lithium treatment increases the expression of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain. **Psychopharmacology**, v. 158, n. 1, p.100-106, 2001.

GARD, P. R. Angiotensin as a target for the treatment of Alzheimer's disease, anxiety and depression. **Expert Opin Ther Targets**, v. 8, n. 1, p. 7–14, 2004.

GARD, P. R. Cognitive-enhancing effects of angiotensin IV. **BMC Neurosc**, p. 1-6, 2008.

GARD, P. R.; MANDY, A.; SUTCLIFFE, M. A. Evidence of a possible role of altered angiotensin function in the treatment, but not etiology, of depression. **Biol. Psychiatry**, v. 45, n. 8, p. 1030-1034, 1999.

GAWRYLUK, J. W.; WANG, J. F.; ANDREAZZA, A. C.; SHAO, L.; YOUNG, L. T. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. **Int J Neuropsychopharmacol.**, v. 14, n. 1, p. 123-130, 2011.

GILDENGERS, A. G.; CHISHOLM, D.; BUTTERS, M. A.; ANDERSON, S. J.; BEGLEY, A.; HOLM, M.; ROGERS, J. C.; REYNOLDS, C. F. MULSANT, B. H. Two-year course of cognitive function and instrumental activities of daily living in older adults with bipolar disorder: evidence for neuroprogression? **Psychol Med.**, v. 43, n. 4, p. 801-811, 2013.

GIRONACCI, M. M.; LONGO CARBAJOSA, N. A.; GOLDSTEIN, J.; CERRATO, B. D. Neuromodulatory role of angiotensin-(1-7) in the central nervous system. **Clin Sci.**, v. 125, n. 2, p. 57-65, 2013.

GLEITER, C. H.; JÄGLE, C.; GRESSER, U.; MÖRIKE, K. Candesartan. **Cardiovasc Drug Rev.**, v. 22, n. 4, p. 263-284, 2004.

GOMES, F. A.; ALMEIDA, K. M.; MAGALHÃES, P. V.; CAETANO, S. C.; KAUER-SANT'ANNA, M.; LAFER, B.; KAPCZINSKI, F. Cardiovascular risk factors in outpatients with bipolar disorder: a report from the Brazilian Research Network in Bipolar Disorder. **Rev Bras Psiquiatr.**, v. 35, n. 2, p. 126-130, 2013.

GOSSELIN, D.; RIVEST, S. Role of IL-1 and TNF in the brain: twenty years of progress on a Dr. Jekyll/Mr. Hyde duality of the innate immune system. **Brain Behav Immun.**, v. 21, n. 3, p. 281-289, 2007.

GRANDE, I.; FRIES, G. R.; KUNZ, M.; KAPCZINSKI, F. The role of BDNF as a mediator of neuroplasticity in bipolar disorder. **Psychiatry Investig.**, v. 7, n. 4, p. 243-250, 2010.

GREATHOUSE, M. K.; WEIR, M. R. The role of ARBs alone or with HCTZ in the treatment of hypertension and prevention of cardiovascular and renal complications. **Postgrad Med.**, v. 124, n. 2, p. 40-52, 2012.

GRIENDLING, K. K.; SORESCU, D.; USHIO-FUKAI, M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. **Circ Res.**, v. 86, n. 5, p. 494-501, 2000.

GRIMES, C. A.; JOPE, R. S. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3beta in cellular signaling. **Prog Neurobiol.**, v. 65, n. 4, p. 391-426, 2001.

GUAN, W.; SOMANATH, P. R.; KOZAK, A.; GOC, A.; EL-REMESSY, A. B.; ERGUL, A.; JOHNSON, M. H.; ALHUSBAN, A.; SOLIMAN, S.; FAGAN, S. C. Vascular protection by angiotensin receptor antagonism involves differential VEGF expression in both hemispheres after experimental stroke. **PLoS One**, v. 6, n. 9, 2011.

GULOXSUZ, S.; ALTINBAS, K.; AKTAS CETIN, E.; KENIS, G.; BILGIC GAZIOGLU, S.; DENIZ, G.; ORAL, E. T.; VAN OS, J. Evidence for an association between tumor necrosis factor-alpha levels and lithium response. **J Affect Disord.**, v. 143, n. 1-3, p. 148-152, 2012.

HAMAI, M.; IWAI, M.; IDE, A.; TOMOCHIKA, H.; TOMONO, Y.; MOGI, M.; HORIUCHI, M. Comparison of inhibitory action of candesartan and enalapril on brain ischemia through inhibition of oxidative stress. **Neuropharmacology**, v. 51, n. 4, p. 822-828, 2006.

HAMDANI, N.; DOUKHAN, R.; KURTLUCAN, O.; TAMOUZA, R.; LEBOYER, M. Immunity, inflammation, and bipolar disorder: diagnostic and therapeutic implications. **Curr Psychiatry Rep.**, v. 15, n. 9, p. 387, p. 1-8, 2013.

HAYLEY, S.; LITTELJOHN, D. Neuroplasticity and the next wave of antidepressant strategies. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 7, p. 1-18, 2013.

JOGLAR, B.; RODRIGUEZ-PALLARES, J.; RODRIGUEZ-PEREZ, A. I.; REY, P.; GUERRA, M. J.; LABANDEIRA-GARCIA, J. L. The inflammatory response in the MPTP model of Parkinson's disease is mediated by brain angiotensin: relevance to progression of the disease. **J Neurochem.**, v. 109, n. 2, p. 656-669, 2009.

JOPE, R. S. Anti-bipolar therapy: mechanism of action of lithium. **Mol Psychiatry.**, v. 4, n. 2, p. 117-128, 1999.

JOPE, R. S.; ROH, M. S. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3) in psychiatric diseases and therapeutic interventions. **Curr Drug Targets.**, v. 7, n. 11, p. 1421-1434, 2006.

JORNADA, L. K.; MORETTI, M.; VALVASSORI, S. S.; FERREIRA, C. L.; PADILHA, P. T.; ARENT, C. O.; FRIES, G. R.; KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J. Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain. **J Psychiatr Res.**, v. 44, n. 8, p. 506-510, 2010.

JUNG, K. H.; CHU, K.; LEE, S. T.; KIM, S. J.; SONG, E. C.; KIM, E. H.; PARK, D. K.; SINN, D. I.; KIM, J. M.; KIM, M.; ROH, J. K. Blockade of AT1 receptor reduces apoptosis, inflammation, and oxidative stress in normotensive rats with intracerebral hemorrhage. **J Pharmacol Exp Ther.**, v. 322, n. 3, p. 1051-1058, 2007.

KAPCZINSKI, F.; DIAS, V. V.; KAUER-SANT'ANNA, M.; FREY, B. N.; GRASSI-OLIVEIRA, R.; COLOM, F.; BERK, M. Clinical implications of a staging model for bipolar disorders. **Expert Rev Neurother.**, v. 9, n. 7, p. 957-966, 2009.

KAPCZINSKI, F.; VIETA, E.; ANDREAZZA, A. C.; FREY, B. N.; GOMES, F. A.; TRAMONTINA, J.; KAUER-SANT'ANNA, M.; GRASSI-OLIVEIRA, R.; POST, R. M. Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. **Neurosci Biobehav Rev.**, v. 32, n. 4, p. 675-692, 2008.

KAUER-SANT'ANNA, M.; KAPCZINSKI, F.; ANDREAZZA, A. C.; BOND, D. J.; LAM, R. W.; YOUNG, L. T.; YATHAM, L. N. Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. **Int J Neuropsychopharmacol.**, n. 12, n. 4, p. 447-458, 2009.

KHAIROVA, R.; PAWAR, R.; SALVADORE, G.; JURUENA, M. F.; DE SOUSA, R. T.; SOEIRO-DE-SOUZA, M. G.; SALVADOR, M.; ZARATE, C. A.; GATTAZ, W.

F.; MACHADO-VIEIRA, R. Effects of lithium on oxidative stress parameters in healthy subjects. **Mol. Med. Rep.**, v. 5, n. 3, p. 680–682, 2012.

KIM, Y. K.; JUNG, H. G.; MYINT, A. M.; KIM, H.; PARK, S. H. Imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in bipolar disorder. **J Affect Disord.**, v. 104, n. 1-3, p. 91-95, 2007.

KISHI, T.; HIROOKA, Y.; SUNAGAWA, K. Telmisartan protects against cognitive decline via up-regulation of brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin-related kinase B in hippocampus of hypertensive rats. **J Cardiol.**, v. 60, n. 6, p. 489-494, 2012.

KOCKERITZ, L.; DOBLE, B.; PATEL, S.; WOODGETT, J. R. Glycogen synthase kinase-3--an overview of an over-achieving protein kinase. **Curr Drug Targets.**, v. 7, n. 11, p. 1377-1388, 2006.

KOO, J. W.; DUMAN, R. S. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. **Proc Natl Acad Sci.**, v. 105, n. 2, p. 751-756, 2008.

KRIKOV, M.; THONE-REINEKE, C.; MÜLLER, S.; VILLRINGER, A.; UNGER, T. Candesartan but not ramipril pretreatment improves outcome after stroke and stimulates neurotrophin BDNF/TrkB system in rats. **J Hypertens.**, v. 26, n. 3, p. 544-552, 2008.

KRISHNADAS, R.; CAVANAGH, J. Depression: an inflammatory illness? **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 83, n. 5, p. 495-502, 2012.

KUCUKALI, C. I.; AYDIN, M.; OZKOK, E.; BILGE, E.; ZENGİN, A.; ÇAKIR, U.; KARA, I. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in schizophrenia, bipolar disorders, and their first-degree relatives. **Psychiatr Genet.**, v. 20, n. 1p p. 14-19, 2010.

KULAK, A.; CUENOD, M.; DO, K. Q. Behavioral phenotyping of glutathione-deficient mice: relevance to schizophrenia and bipolar disorder. **Behav Brain Res.**, v. 226, n. 2, p. 563-570, 2012.

KULAK, A.; STEULLET, P.; CABUNGCAL, J. H.; WERGE, T.; INGASON, A.; CUENOD, M.; DO, K. Q. Redox dysregulation in the pathophysiology of schizophrenia and bipolar disorder: insights from animal models. **Antioxid Redox Signal.**, v. 18, n. 12, p. 1428-1443, 2013.

KUNZ, M.; GAMA, C. S.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M.; CERESÉR, K. M.; GOMES, F. A.; BELMONTE-DE-ABREU, P. S.; BERK, M.; KAPCZINSKI, F. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 32, n. 7, p. 1677–1681, 2008.

LAMBETH, J. D.; KRAUSE, K. H.; CLARK, R. A. NOX enzymes as novel targets for drug development. **Semin Immunopathol.**, v. 30, n. 3, p. 339-363, 2008.

LICHT, R. W. Lithium: still a major option in the management of bipolar disorder. **CNS Neurosci Ther.**, v. 18, n. 3, p. 219–226, 2012.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, 2001.

LI, X.; FRIEDMAN, A. B.; ZHU, W.; WANG, L.; BOSWELL, S.; MAY, R. S.; DAVIS, L. L.; JOPE, R. S. Lithium regulates glycogen synthase kinase-3beta in human peripheral blood mononuclear cells: implication in the treatment of bipolar disorder. **Biol Psychiatry**, v. 61, n. 2, p. 216-222, 2007.

LI, X.; LIU, M.; CAI, Z.; WANG, G.; LI, X. Regulation of glycogen synthase kinase-3 during bipolar mania treatment. **Bipolar Disord.**, v. 12, n. 7, p. 741-752, 2010.

LIU, F.; HAVENS, J.; YU, Q.; WANG, G.; DAVISSON, R. L.; PICKEL, V. M.; IADECOLA, C. The link between angiotensin II-mediated anxiety and mood disorders with NADPH oxidase-induced oxidative stress. **Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.**, v. 4, n. 1, p. 28-35, 2012.

LÓPEZ-JARAMILLO, C.; LOPERA-VÁSQUEZ, J.; OSPINA-DUQUE, J.; GARCÍA, J.; GALLO, A.; CORTEZ, V.; PALACIO, C.; TORRENT, C.; MARTÍNEZ-ARÁN, A.; VIETA, E. Lithium treatment effects on the neuropsychological functioning of patients with bipolar I disorder. **J Clin Psychiatry**, v. 71, n. 8, p. 1055-1060, 2010.

MACDONALD, N. J.; DELDERFIELD, S. M.; ZHANG, W.; TAGLIALATELA, G. Tumour necrosis factor-alpha- vs. growth factor deprivation-promoted cell death: distinct converging pathways. **Aging Cell**, v. 2, n. 5, p. 245-256, 2003.

MACÊDO, D. S.; MEDEIROS, C. D.; CORDEIRO, R. C.; SOUSA, F. C.; SANTOS, J. V.; MORAIS, T. A.; HYPHANTIS, T. N.; MCINTYRE, R. S.; QUEVEDO, J.; CARVALHO, A. F. Effects of alpha-lipoic acid in an animal model of mania induced by D-amphetamine. **Bipolar Disord.**, v. 14, n. 7, p. 707-718, 2012.

MACHADO-VIEIRA, R.; KAPCZINSKI, F.; SOARES, J. C. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 28, n. 2, p. 209-224, 2004.

MACKIN, P.; GALLAGHER, P.; WATSON, S.; YOUNG, A. H.; FERRIER, I. N. Changes in brain-derived neurotrophic factor following treatment with mifepristone in bipolar disorder and schizophrenia. **Aust N Z J Psychiatry**, v. 41, n. 4, p. 321-326, 2007.

MAGALHÃES, P. V.; DEAN, O. M.; BUSH, A. I.; COPOLOV, D. L.; MALHI, G. S.; KOHLMANN, K.; JEAVONS, S.; SCHAPKAITZ, I.; ANDERSON-HUNT, M.; BERK, M. N-acetyl cysteine add-on treatment for bipolar II disorder: a subgroup analysis of a randomized placebo-controlled trial. **J. Affect. Disord.**, v. 129, n. 1-3, p. 317-320, 2011.

MAI, L.; JOPE, R. S.; LI, X. BDNF-mediated signal transduction is modulated by GSK3beta and mood stabilizing agents. **J Neurochem.**, v. 82, n. 1, p. 75-83, 2002.

MANJI, H.; KATO, T.; DI PROSPERO, N. A.; NESS, S.; BEAL, M. F.; KRAMS, M.; CHEN, G. Impaired mitochondrial function in psychiatric disorders. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 13, n. 5, p. 293–307, 2012.

MANOSSO, L. M.; NEIS, V. B.; MORETTI, M.; DAUFENBACH, J. F.; FREITAS, A. E.; COLLA, A. R.; RODRIGUES, A. L. Antidepressant-like effect of α -tocopherol in a mouse model of depressive-like behavior induced by TNF- α . **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 46, p. 48-57, 2013.

MARQUES, A. H.; CIZZA, G.; STERNBERG, E. Brain-immune interactions and implications in psychiatric disorders. **Rev Bras Psiquiatr.**, 2007.

MATÉS, J.M.; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. **Front Biosci.**, v. 4, p. 339-345, 1999.

MCINTYRE, R. S.; SOCZYNSKA, J. K.; BEYER, J. L.; WOLDEYOHANNES, H. O.; LAW, C. W.; MIRANDA, A.; KONARSKI, J. Z.; KENNEDY, S. H. Medical comorbidity in bipolar disorder: re-prioritizing unmet needs. **Curr Opin Psychiatry**, v 20, n. 4, p. 406-416, 2007.

MERTENS, B.; VARCIN, M.; MICHOTTE, Y.; SARRE, S. The neuroprotective action of candesartan is related to interference with the early stages of 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic cell death. **Eur J Neurosci.**, v. 34, n. 7, p. 1141-1148, 2011.

MILLS NP, DELBELLO MP, ADLER CM, STRAKOWSKI SM. MRI analysis of cerebellar vermal abnormalities in bipolar disorder. **Am J Psychiatry.**, v. 162, n. 8, p. 1530-1532, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Nota Técnica ABS N° 74 /2012/ Nota Técnica ABS N° 74 /2012/ NUT/ CODAJUD/ CONJUR-MS Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/arquivos/Candesartana.pdf>>. Acesso em: 23 de setembro de 2013.

MONKUL, E. S.; HATCH, J. P.; SASSI, R. B.; AXELSON, D.; BRAMBILLA, P.; NICOLETTI, M. A.; KESHAVAN, M. S.; RYAN, N. D.; BIRMAHER, B.; SOARES, J. C. MRI study of the cerebellum in young bipolar patients. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.**, v. 32, n. 3, p. 613-619, 2008.

MORA, E.; PORTELLA, M. J.; FORCADA, I.; VIETA, E.; MUR, M. Persistence of cognitive impairment and its negative impact on psychosocial functioning in lithium-treated, euthymic bipolar patients: a 6-year follow-up study. **Psychol Med.**, v. 43, n. 6, p. 1187-1196, 2013.

MORSELLI, P. L.; ELGIE, R.; CESANA, B. M. GAMIAN-Europe/BEAM survey II: cross-national analysis of unemployment, family history, treatment satisfaction and impact of the bipolar disorder on life style. **Bipolar Disord.**, v. 6, p. 487-497, 2004.

MÜLLER-OERLINGHAUSEN, B.; BERGHÖFER, A.; BAUER, M. Bipolar disorder. **Lancet.**, v. 359, n. 9302, p. 241-247, 2002.

NA, K. S.; JUNG, H. Y.; KIM, Y. K. The role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, p. 1-10, 2012.

NAIK, P.; MURUMKAR, P.; GIRIDHAR, R.; YADAV, M. R. Angiotensin II receptor type 1 (AT1) selective nonpeptidic antagonists--a perspective. **Bioorg Med Chem.**, v. 18, n. 24, p. 8418-8456, 2010.

NASR, S. J.; CRAYTON, J. W.; AGARWAL, B.; WENDT, B.; KORA, R. Lower frequency of antidepressant use in patients on renin-angiotensin-aldosterone system modifying medications. **Cell Mol Neurobiol.**, v. 31, n. 4, p. 615–618, 2011.

NESTLER, E. J.; HYMAN, S. E. Animal models of neuropsychiatric disorders. **Nat Neurosci.**, v. 13, n. 10, p. 1161-1169, 2010.

O'BRIEN, W. T.; KLEIN, P. S. Validating GSK3 as an in vivo target of lithium action. **Biochem Soc Trans.**, v. 37, p. 1133-1138, 2009.

OBULESU, M.; JHANSILAKSHMI, M. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: an understanding of physiology and pathology. **Int J Neurosci.** 2013.

O'DONNELL, K. C.; GOULD, T. D. The behavioral actions of lithium in rodent models: leads to develop novel therapeutics. **Neurosci Biobehav Rev.**, v. 31, n. 6, p. 932-962, 2007.

OLMEZ, I.; OZYURT, H. Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease. **Neurochem. Int.**, v. 60, n. 2, p. 208–212, 2012.

OZACMAK, V. H.; SAYAN, H.; CETIN, A.; AKYILDIZ-IGDEM, A. AT1 receptor blocker candesartan-induced attenuation of brain injury of rats subjected to chronic cerebral hypoperfusion. **Neurochem Res.**, v. 32, n. 8, p.1314-1321, 2007.

PADMOS, R. C.; HILLEGERS, M. H.; KNIJFF, E. M.; VONK, R.; BOUVY, A.; STAAL, F. J.; DE RIDDER, D.; KUPKA, R. W.; NOLEN, W. A.; DREXHAGE, H. A. A discriminating messenger RNA signature for bipolar disorder formed by an aberrant expression of inflammatory genes in monocytes. **Arch Gen Psychiatry.**, v. 65, n. 4, p. 395-407, 2008.

PANG, T.; WANG, J.; BENICKY, J.; SÁNCHEZ-LEMUS, E.; SAAVEDRA, J. M. Telmisartan directly ameliorates the neuronal inflammatory response to IL-1 β partly through the JNK/c-Jun and NADPH oxidase pathways. **J Neuroinflammation.**, v. 9, p. 1-19, 2012.

PAVEL, J.; BENICKY, J.; MURAKAMI, Y.; SANCHEZ-LEMUS, E.; SAAVEDRA, J. M. Peripherally administered angiotensin II AT1 receptor antagonists are anti-stress compounds in vivo. **Ann N Y Acad Sci.**, v. 1148, p. 360-366, 2008.

PAVLATOU, M. G.; MASTORAKOS, G.; LEKAKIS, I.; LIATIS, S.; VAMVAKOU, G.; ZOUMAKIS, E.; PAPASSOTIRIOU, I.; RABAVILAS, A. D.; KATSILAMBROS, N.; CHROUSOS, G. P. Chronic administration of an angiotensin II receptor antagonist

resets the hypothalamic-pituitary- adrenal (HPA) axis and improves the affect of patients with diabetes mellitus type 2: preliminary results. **Stress**, v. 11, n. 1, p. 62-72, 2008.

PFAFFENSELLER, B.; FRIES, G. R.; WOLLENHAUPT-AGUIAR, B.; COLPO, G. D.; STERTZ, L.; PANIZZUTTI, B.; MAGALHÃES, P. V.; KAPCZINSKI, F. Neurotrophins, inflammation and oxidative stress as illness activity biomarkers in bipolar disorder. **Expert Rev Neurother.**, v. 13, n. 7, p. 827-842, 2013.

PHILLIPS, M. L.; KUPFER, D. J. Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. **Lancet.**, v. 381, p. 1663-1671, 2013.

POST, R. M. Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: clinical and theoretical implications. **J Psychiatr Res.**, v. 4, p. 979-990, 2007.

PRICKAERTS, J.; MOECHARS, D.; CRYNS, K.; LENAERTS, I.; VAN CRAENENDONCK, H.; GORIS, I.; DANEELS, G.; BOUWKNECHT, J. A.; STECKLER, T. Transgenic mice overexpressing glycogen synthase kinase 3beta: a putative model of hyperactivity and mania. **J. Neurosci.**, v. 26, n. 35, p. 9022-9029, 2006.

QUEIROZ, G. A. I.; MEDEIROS, C. D.; RIBEIRO, B. M.; DE LUCENA, D. F.; MACÊDO, D. S. Angiotensin receptor blockers for bipolar disorder. **Med Hypotheses.**, v. 80, n. 3, p. 259-263, 2013.

RAFFA, M.; BARHOUMI, S.; ATIG, F.; FENDRI, C.; KERKENI, A.; MECHRI, A. Reduced antioxidant defense systems in schizophrenia and bipolar I disorder. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.**, v. 39, n. 2, p. 371-375, 2012.

REGE, S.; HODGKINSON, S. J. Immune dysregulation and autoimmunity in bipolar disorder: Synthesis of the evidence and its clinical application. **Aust N Z J Psychiatry**, p. 1-16, 2013.

ROBLES, N. R.; CERESO, I.; HERNANDEZ-GALLEGO, R. Renin-Angiotensin System Blocking Drugs. **J Cardiovasc Pharmacol Ther.** 2013

ROVER JUNIOR, L.; HOEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quím. Nova**, v. 24, n.1, p. 112-119, 2001.

RUILOPE, L. M.; ROSEI, E. A.; BAKRIS, G. L.; MANCIA, G.; POULTER, N. R.; TADDEI, S.; UNGER, T.; VOLPE, M.; WAEBER, B.; ZANNAD, F. Angiotensin receptor blockers: therapeutic targets and cardiovascular protection. **Blood Press**, v. 14, n. 4, p. 196-209, 2005.

SAAB, Y. B.; GARD, P. R.; YEOMAN, M. S.; MFARREJ, B.; EL-MOALEM, H.; INGRAM, M. J. Renin-angiotensin-system gene polymorphisms and depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 31, n. 5, p. 1113-1118, 2007.

SAAVEDRA, J. M. ARMANDO, I.; BREGONZIO, C.; JUORIO, A.; MACOVA, M.; PAVEL, J.; SANCHEZ-LEMUS, E. A centrally acting, anxiolytic angiotensin II AT1 receptor antagonist prevents the isolation stress-induced decrease in cortical CRF1 receptor and benzodiazepine binding. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, n. 6, p. 1123-1134, 2006.

SAAVEDRA, J. M. Angiotensin II AT1 receptor blockers as treatments for inflammatory brain disorders. **Clin Sci.**, v. 123, n.10, p. 567-590, 2013.

SAAVEDRA, J. M. Brain and pituitary Angiotensin. **Endocr Ver.**, v. 13, n. 2, p. 329-380, 1992.

SAAVEDRA, J. M.; SÁNCHEZ-LEMUS, E.; BENICKY, J. Blockade of brain angiotensin II AT1 receptors ameliorates stress, anxiety, brain inflammation and ischemia: Therapeutic implications. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, n. 1, p. 1-18, 2011.

SAITOH, Y.; HONGWEI, W.; UENO, H.; MIZUTA, M.; NAKAZATO, M. Candesartan attenuates fatty acid-induced oxidative stress and NAD(P)H oxidase activity in pancreatic beta-cells. **Diabetes Res Clin Pract.**, v. 90, n. 1, p. 54-59, 2010.

SÁNCHEZ-LEMUS, E.; BENICKY, J.; PAVEL, J.; SAAVEDRA, J. M. In vivo Angiotensin II AT1 receptor blockade selectively inhibits LPS-induced innate immune response and ACTH release in rat pituitary gland. **Brain Behav Immun.**, v. 23, n. 7, p. 945-957, 2009.

SANCHEZ-MORENO, J.; MARTINEZ-ARAN, A.; TABARÉS-SEISDEDOS, R.; TORRENT, C.; VIETA, E.; AYUSO-MATEOS, J. L. Functioning and disability in bipolar disorder: an extensive review. **Psychother Psychosom.**, v. 78, n. 5, p. 285-297, 2009.

SCHIEPERS, O. J.; WICHERS, M. C.; MAES, M. Cytokines and major depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 29, n. 2, p. 201-217, 2005.

SCHMAHMANN, J. D.; WEILBURG, J. B.; SHERMAN, J. C. The neuropsychiatry of the cerebellum - insights from the clinic. **Cerebellum**, v. 6, n. 3, p. 254-267, 2007.

SEDLAK, J.; HANUS, L. Changes of glutathione and protein bound SH-groups concentration in rat adrenals under acute and repeated stress. **Endocrinol. Exp.**, v. 16, n. 2, p. 103-109, 1982.

SHAO, J.; IWASHITA, N.; IKEDA, F.; OGIHARA, T.; UCHIDA, T.; SHIMIZU, T.; UCHINO, H.; HIROSE, T.; KAWAMORI, R.; WATADA, H. Beneficial effects of candesartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, on b-cell function and morphology in db/db mice. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 344, n. 4, p. 1224-1233, 2006.

SIMONIS G, DAHLEM MH, HOHLFELD T, YU X, MARQUETANT R, STRASSER RH. A novel activation process of protein kinase C in the remote, non-ischemic area of

an infarcted heart is mediated by angiotensin-AT1 receptors. **J Mol Cell Cardiol.**, v. 35, n. 11, p. 1349-1358, 2003.

SPARKS, D. L.; HUNSAKER, J. C.; AMOUYEL, P.; MALAFOSSE, A.; BELLIVIER, F.; LEBOYER, M.; COURTET, P.; HELBECQUE, N. Angiotensin I-converting enzyme I/D polymorphism and suicidal behaviors. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.**, v. 150B, n. 2, p. 290-294, 2009.

STECKELINGS, U. M.; KASCHINA, E.; UNGER, T. The AT2 receptor--a matter of love and hate. **Peptides**, v. 26, n. 8, p. 1401-1409, 2005.

STECKERT, A. V.; VALVASSORI, S. S.; MORETTI, M.; DAL-PIZZOL, F.; QUEVEDO, J. Role of oxidative stress in the pathophysiology of bipolar disorder. **Neurochem Res.**, v. 35, n. 9, p. :1295–1301, 2010.

STRAKOWSKI, S. M.; DELBELLO, M. P.; ADLER, C. M. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. **Molecular Psychiatry**, v. 10, n.1, p. 105–116, 2005.

SUGANO, Y.; ANZAI, T.; YOSHIKAWA, T.; SATOH, T.; IWANAGA, S.; HAYASHI, T.; MAEKAWA, Y.; SHIMIZU, H.; YOZU, R.; OGAWA, S. Serum Creactive protein elevation predicts poor clinical outcome in patients with distal type acute aortic dissection: association with the occurrence of oxygenation impairment. **Int J Cardiol.**, v. 102, p. 39–45, 2005.

SWERDLOW, N. R.; KOOB, G. F.; CADOR, M.; LORANG, M.; HAUGER, R. L. Pituitary-adrenal axis responses to acute amphetamine in the rat. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 45, n. 3, p. 629–637, 1993.

TILLEUX, S.; HERMANS, E. Neuroinflammation and regulation of glial glutamate uptake in neurological disorders. **J Neurosci Res.**, v. 85, n. 10, p. 2059-2070, 2007.

TOTA, S.; KAMAT, P. K.; AWASTHI, H.; SINGH, N.; RAGHUBIR, R.; NATH, C.; HANIF, K. Candesartan improves memory decline in mice: involvement of AT1 receptors in memory deficit induced by intracerebral streptozotocin. **Behav Brain Res.**, v. 199, n. 2, p. 235-240, 2009.

TSALTAS, E.; KONTIS, D. A review of the effects of lithium on cognitive functions: Effects on the neuropsychiatrically challenged CNS. **Psychiatrike**, v. 20, n. 2, p.132-144, 2009.

TSANKOVA, N.; RENTHAL, W.; KUMAR, A.; NESTLER, E. J. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. **Nat Rev Neurosci**, v. 8, p. 355-367, 2007.

UNGER T. Targeting cardiovascular protection: the concept of dual renin–angiotensin system control. **Medscape J Med.** 2008.

VACULIKOVA, E.; GRUNWALDOVA, V.; KRAL, V.; DOHNAL, J.; JAMPILEK, J. Preparation of candesartan and atorvastatin nanoparticles by solvent evaporation. **Molecules**, v. 17, p. 13221-13234, 2012.

VALVASSORI, S. S.; REZIN, G. T.; FERREIRA, C. L.; MORETTI, M.; GONÇALVES, C. L.; CARDOSO, M. R.; STRECK, E. L.; KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J. Effects of mood stabilizers on mitochondrial respiratory chain activity in brain of rats treated with d-amphetamine. **J Psychiatr Res.**, v. 44, n. 14, p. 903-909, 2010.

VILLAPOL, S.; YASZEMSKI, A. K.; LOGAN, T. T.; SÁNCHEZ-LEMUS, E.; SAAVEDRA, J. M.; SYMES, A. J. Candesartan, an angiotensin II AT1-receptor blocker and PPAR- γ agonist, reduces lesion volume and improves motor and memory function after traumatic brain injury in mice. **Neuropsychopharmacology.**, v. 37, n. 13, p. 2817-2829, 2012.

XAVIER, S.; FERREIRA, B. Aspectos Neuropsiquiátricos do Cerebelo. **PsiLogos**, v. 10, n. 1, p. 34-42, 2012.

WEBER, M. A. Angiotensin-II receptor blockers for hypertension and heart failure: quality of life and outcomes. **Manag. Care Interface**, v. 18, n. 2, p. 47-54, 2005.

WU, C. S.; DESARKAR, P.; PALUCKA, A.; LUNSKY, Y.; LIU, S. K. Acute inpatient treatment, hospitalization course and direct costs in bipolar patients with intellectual disability. **Res Dev Disabil.**, v. 34, n. 11, p. 4062-4072, 2013.

YAGI, S.; AKAIKE M, I. S. E. T.; UEDA, Y.; IWASE, T.; SATA, M. Renin-angiotensin-aldosterone system has a pivotal role in cognitive impairment. **Hypertens Res.**, v. 36, n. 9, p. 753-758, 2013.

YAMADA, K.; NODA, Y.; HASEGAWA, T.; KOMORI, Y.; NIKAI, T.; SUGIHARA, H.; NABESHIMA, T. The role of nitric oxide in dizocilpine-induced impairment of spontaneous alternation behavior in mice. **J Pharmacol Exp Ther.**, v. 276, n. 2, p. 460-466, 1996.

YAO, H. B.; SHAW, P. C.; WONG, C. C.; WAN, D. C. Expression of glycogen synthase kinase-3 isoforms in mouse tissues and their transcription in the brain. **J Chem Neuroanat.**, v. 23, n. 4, p. 291-297, 2002.

YOUNG, J. W.; VAN ENKHUIZEN, J.; WINSTANLEY, C. A.; GEYER, M. A. Increased risk-taking behavior in dopamine transporter knockdown mice: further support for a mouse model of mania. **J Psychopharmacol.**, v. 25, n. 7, p. 934-943, 2011.

YOUNG, J. W.; MINASSIAN, A.; PAULUS, M. P.; GEYER, M. A.; PERRY, W. A reverse-translational approach to bipolar disorder: rodent and human studies in the Behavioral Pattern Monitor. **Neurosci Biobehav Rev.**, v. 31, n. 6, p. 882-896, 2007.

YUGANDHAR, V. G.; CLARK, M. A. Angiotensin III: A physiological relevant peptide of the renin angiotensin system. **Peptides**, v. 46, p. 26-32, 2013.

WANG, H. M.; ZHANG, T.; LI, Q.; HUANG, J. K.; CHEN, R. F.; SUN, X. J. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 β by lithium chloride suppresses 6-

hydroxydopamine-induced inflammatory response in primary cultured astrocytes. *Neurochem Int.*, v. 63, n. 5, p. 345-353, 2013.

ZOU, Y. F.; WANG, F.; FENG, X. L.; LI, W. F.; PAN, F. M.; HUANG, F. Meta-analysis of ACE gene I/D polymorphism and bipolar disorder susceptibility. **Nord J Psychiatry**, v. 65, n. 4, p. 276-282, 2011.