



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

**GREICY COELHO DE SOUZA**

**ESTUDO DOS EFEITOS DO CARVEDILOL EM UM MODELO ANIMAL DE  
MANIA EM RATOS**

**FORTALEZA/CE**

**2013**

**GREICY COELHO DE SOUZA**

**ESTUDO DOS EFEITOS DO CARVEDILOL EM UM MODELO ANIMAL DE  
MANIA EM RATOS**

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

Orientadora: Dra. Danielle Silveira Gaspar

**FORTALEZA/CE**

**2013**

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

---

S715e Souza, Greicy Coelho de.  
Estudo dos efeitos do carvedilol em um modelo animal de mania em Ratos / Greicy Coelho de Souza. – 2013.  
78f. : il. color., enc. ; 30 cm.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2013.  
Orientação: Profa. Dra. Danielle Silveira Gaspar.

1. Transtorno Bipolar. 2. Estresse Oxidativo. 3. Farmacologia. I. Título.

---

CDD 616.895

**GREICY COELHO DE SOUZA**

**ESTUDO DOS EFEITOS DO CARVEDILOL EM UM MODELO ANIMAL DE  
MANIA EM RATOS**

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmacologia  
como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

Prof (a). Dra. Eliane Souto Abreu  
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

---

Dr. David Freitas de Lucena  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

*Aos meus pais, Rouvani e Ivonete, exemplos  
de força e trabalho, que foram minha  
primeira motivação para sonhar e crescer.  
Sem o esforço, dedicação, sacrifício, e,  
sobretudo, sem o amor deles eu certamente  
nunca poderia ter chegado até aqui.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todo amor e zelo por mim nesta jornada e por tornar os sonhos do meu coração em realidade segundo Seu coração.

A minha família, meu pai e minha mãe sempre me estimularam a estudar e deram o suporte para meu crescimento intelectual e profissional, ensinando o valor da educação. A minha irmã Lanne, que do seu jeito, tentava me ajudar nas tantas horas de estudo. A minha tia e madrinha Helena Coelho que é exemplo de superação e sabedoria, e referencia na família por ter duas formações e por ter sempre sido muito estudiosa, sempre estimulou aos estudos e apoiou, torcendo para esta realização.

A minha primeira orientadora, a professora e fisioterapeuta Dra. Ana Paula Abdon que abriu as porta da pesquisa para mim na minha universidade de origem UNIFOR e a Dra. Adriana Rolim que foi um anjo do Senhor que me conduziu até a professora Dra. Danielle.

A professora e Dra. Danielle Silveira Gaspar, que me abriu as portas de seu tão concorrido grupo de pesquisa e me confiou seu nome como orientadora. Sou muito grata por conviver com seu conhecimento, sabedoria, avidez pela pesquisa e sua alegria contagiante.

Aos amigos que fiz no laboratório Vlândia, Bruna, Rafaela, Patrícia, Viviane, Delvane e Iris, certamente a afetividade é um dos pilares do aprendizado e a amizade necessário para o crescimento humano das pessoas.

Ao amigo Stéfano que participou dessa jornada desde a seleção e que sempre estava disponível a ajudar.

Em especial a Isabelle Goes que me ajudou antes mesmo de eu ser aprovada na seleção de mestrado e que permaneceu junto nesta empreitada até aqui.

A minha amiga, e irmã que o coração elegeu, Júlia Ariana Gomes, que considero um presente de Deus, por ter me apoiado em cada experimento e estar junto em todas as horas, dentro e fora da universidade.

Aos iniciantes na pesquisa, porém grandes em dedicação e responsabilidade, Lúcia Menezes, Michel Machado e Maíra Moraes que mesmo sendo alunos de um curso tão exaustivo, medicina, sempre estavam dispostos para ajudar. Sem eles certamente teria sido muito mais difícil realizar todos os feitos.

A todos meus amigos pessoais que sempre me estimularam e que sempre entenderam quando eu não podia estar com eles, pois era preciso estudar, e também aqueles que fizeram parte dessa conquista, mas não estamos mais juntos pra compartilhar esse momento.

A todos os professores, técnicas e colegas do Laboratório de Neurofarmacologia da UFC que contribuíram nessa trajetória.

*“O que temer? Nada.  
A quem temer? Ninguém.  
Por quê? Porque aqueles que se unem a  
Deus obtêm três grandes privilégios:  
onipotência sem poder; embriaguez, sem  
vinho e vida sem morte.”*

São Francisco de Assis

## RESUMO

### ESTUDO DOS EFEITOS DO CARVEDILOL EM UM MODELO ANIMAL DE

**MANIA EM RATOS. Greicy Coelho de Souza.** Orientador (a): Profa. Danielle Macêdo Gaspar.

Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2013.

O transtorno afetivo bipolar (TAB) é um transtorno psiquiátrico multifatorial, progressivo, que se caracteriza por uma oscilação entre episódios maníacos ou hipomaníacos e depressivos. Estima-se que o transtorno afete cerca de 1 – 2 % da população mundial. O diagnóstico definitivo e o tratamento adequado podem demorar 10 anos para se concretizar. Leva a grande prejuízo à qualidade de vida dos pacientes, gerando altas taxas de incapacidade funcional, comorbidades clínicas, como hipertensão e alta prevalência de suicídio. A fisiopatologia do transtorno ainda permanece obscura, porém muitos esforços são empregados em pesquisas para tentar elucidar os possíveis mecanismos envolvidos no TAB, bem como para melhorar seu tratamento. As hipóteses para explicar a fisiopatologia do TAB incluem: desregulação da dopamina, alterações mitocondriais, aumento do estresse oxidativo, redução dos níveis de neurotrofinas, dentre outras. Diante deste cenário, buscou-se investigar os possíveis efeitos antimaníacos do carvedilol (CVD), um beta-bloqueador não seletivo usado amplamente no tratamento da hipertensão arterial com comprovada ação antioxidante e neuroprotetora. Para tanto, se utilizou um modelo animal de mania induzido por dimesilado de lisdexanfetamina (LDX), recentemente validado por nosso grupo de pesquisa. O LDX é um pró-fármaco que se converte a D-anfetamina, a qual possui efeito psicoestimulante. O CVD foi avaliado em dois protocolos de tratamento, prevenção (simulando a fase de manutenção do TAB) e reversão (simulando a fase de crise do TAB), em ambos o valproato (VAL) foi utilizado como estabilizante do humor padrão. Foram avaliadas no presente estudo alterações comportamentais e de estresse oxidativo. Os animais submetidos aos protocolos de prevenção (animais pré-tratados durante 7 dias com CVD, VAL e Salina e por mais 7 dias com LDX 10 mg/kg) e reversão (pré-tratados durante 7 dias com LDX e posteriormente tratados com CVD, VAL e Salina) tiveram os níveis de glutathiona reduzida (GSH) e de peroxidação lipídica (TBARS) determinados nas áreas cerebrais do córtex pré-frontal (PFC) e corpo estriado (CE) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo (HC). Os resultados indicaram que o CVD preveniu e reverteu a hiperlocomoção e comprometimento da interação social induzidas por LDX. Na avaliação neuroquímica o CVD foi capaz de aumentar prevenir e reverter as alterações nos níveis de GSH, BDNF e peroxidação lipídica dos animais submetidos ao modelo de mania com resultados comparáveis aos dos animais tratados com VAL e controles. Em conclusão, os resultados deste estudo revelaram que o CVD é um fármaco em potencial para o tratamento da mania, sendo indicados, portanto, estudos clínicos que comprovem a ação deste fármaco.

**Palavras-chave:** Transtorno Bipolar, Carvedilol, Mania e Estresse Oxidativo



## ABSTRACT

**EFFECTS OF CARVEDILOL IN AN ANIMAL MODEL OF MANIA IN RATS.** Greicy Coelho de Souza. Supervisor (a): Profa. Danielle Macêdo Gaspar. Master Dissertation. Program of Post-Graduation in Pharmacology. Department of Physiology and Pharmacology, UFC, 2013.

Bipolar disorder (BD) is a psychiatric disorder with multifactorial development and neuroprogressive characterized by oscillation between periods of manic and depressive episodes. It is estimated that the disease affects about 1 - 2% of the worldwide population and it takes about 10 years to a definitive diagnosis and appropriate treatment. BD brings many impairment of quality of life of patients, generating high rates of functional disability, comorbidities such as hypertension during the clinical course of the disease and presenting a high prevalence of suicide. The pathophysiology of the disease remains unclear, but many efforts are employed in research to try to elucidate the possible mechanisms involved in BD. The pathways hypothesized to take part of BD pathophysiology includes: dopamine deregulation, increased oxidative stress, decreased levels of neurotrophins such as BDNF, mitochondrial dysfunction among others. Based on the described above we sought to investigate the effects of carvedilol, (CVD), a nonselective beta-blocker widely used in the treatment of hypertension with antioxidant properties, in a model of mania induced by dimesilate of lisdexamfetamine (LDX) a prodrug metabolized to D-amphetamine, in rats. The experimental design of the study consisted evaluation of CVD against behavioral changes and oxidative stress alterations in two protocols of treatment, prevention and reversal using valproate (VAL) a humor stabilizer as standard drug to assess the effectiveness of CVD. In the prevention protocol the animals were pre-treated for 7 days with CVD, saline or VAL). In the reversal protocol the animals were pre-treated for 7 days with LDX and for further 7 days received CVD, saline or VAL plus LDX. The behavioral determinations of locomotor activity and social interaction were conducted 2 h after the last administration of LDX. Reduced glutathione (GSH) and lipid peroxidation (TBARS) levels were determined in brain areas of the prefrontal cortex (PFC) and striatum (EC) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the hippocampus (HC) rats. The results indicated that CVD prevented and reversed the hyperlocomotion and deficit in social contacts induced by LDX. In the neurochemical determinations CVD significantly prevented and reversed the alterations in BDNF, GSH and MDA levels induced by LDX presenting results comparable to those of saline and VAL groups. Therefore, the results of the present study indicates that CVD prevents reverts the behavioral and neurochemical alterations induced by LDX used as an animal model of mania being, thus, a potential drug for the treatment of BD.

**Keywords:** Bipolar Disorder, Mania, Carvedilol and Oxidative Stress

## ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Trifosfato de adenosina
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
Ca <sup>2+</sup>	Cálcio
°C	grau Celsius
CACNA1C	<i>Calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit</i>
CAT	Catalase
CE	Corpo estriado
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
CID-10	Classificação Internacional de Doenças – 10ª edição
COX2	Ciclo-oxigenase 2
CPF	Córtex pré-frontal
DA	Dopamina
D-ANF	D-anfetamina
DAOA	<i>D-amino acid oxidase activator</i>
Disc1	<i>Disrupted in schizophrenia 1</i>
DSM-IV	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais da Associação Americana de Psiquiatria, 4ª edição
DTNB	Reação de reagente de Ellman
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
EPM	Erro padrão da média
F-DOPA	Fluorodopa
g	Gramas
GR	Glutathione Redutase
GRIK4	<i>Glutamate receptor, ionotropic, kainate 4</i>

GSH	Glutathiona Reduzida
GSK3 $\beta$	Glicogénio sintase quinase 3 beta
h	hora
HP	Hipocampo
IL-6	Interleucina 6
I.P	Intraperitoneal
Kg	quilograma
L-DOPA	Levodopa
LDX	Dimesilato de Lisdexanfetamina
LPS	Lipopolissacarideos
m-AMPH	Glutamato por metanfetamina
MDA	malonildilaldeído
NaCl	Solução salina
mg	Miligrama
min	minuto
mL	mililitro
NCAN	<i>Neurocan</i>
ODZ4	Odz, odd Oz/ten-m homolog 4 (Drosophila)
OH	Hidróxido
OMS	Organização Mundial de Saúde
ON	Óxido nítrico
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
PGE2	Prostaglandina
PKC	Proteína quinase C
RNS	Espécies reativas de nitrogênio

SEM	<i>Standard errors of the mean</i>
SLC6A4	<i>Solute carrier family 6(neurotransmitter transporter, serotonin), member 4)</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Enzima superóxido dismutase
TAB	Transtorno Afetivo Bipolar
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral
TPH2	<i>Triptofano hidroxilase 2</i>
TPM	Transição de permeabilidade mitocondrial
VAL	Valproato de Sódio
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial
$\mu$ l	Microlitro
5-HT	Serotonérgica

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Alterações de humor.....	19
Figura 2 – Sintomas da Mania. Fonte: Moreno et al., 2009. ....	22
Figura 3 – Vias neuroquímicas possivelmente envolvidas na neuroprogressão do Transtorno Afetivo Bipolar.. ....	25
Figura 4 – Estrutura Molecular do Dimesilato de lidexanfetamina (LDX) (Vyvanse ®).....	31
Figura 5 – Estrutura molecular do Carvedilol . (STOJANOVIĆ et al., 2005).....	31
Figura 6 – Estrutura molecular de 4-hidroxicarbazol. (STOJANOVIĆ et al., 2005). ....	32
Figura 7 – Protocolo do tratamento de reversão.....	37
Figura 8 – Protocolo de tratamento de prevenção. ....	38
Figura 9 – Protocolo de tratamento do grupo controle. ....	39
Figura 10 – Testes bioquímicos aplicados nas áreas cerebrais.....	40
Figura 11 – Atividade locomotora dos animais submetidos aos protocolos de Prevenção e Reversão.. ....	45
Figura 12 – Número de <i>rearings</i> nos protocolos de Prevenção e Reversão. ....	47
Figura 13 – Percentual de interação social nos protocolos de Prevenção e Reversão. ....	49
Figura 14 – Níveis de glutathiona reduzida (GSH) no córtex pré-frontal (PFC) e corpo estriado (ST) nos animais submetidos aos protocolos de Prevenção e Reversão.....	51
Figura 15 – Níveis de peroxidação lipídica (TBARS) no córtex pré-frontal (Prefrontal) e corpo estriado (ST) dos animais submetidos aos protocolos de Prevenção e Reversão. ....	53
Figura 16 - Níveis de BDNF no hipocampo de animais submetidos aos protocolos de Prevenção e Reversão.. ....	55

## SUMÁRIO

1.1 Transtorno Afetivo Bipolar .....	15
1.2 Fenomenologia .....	17
1.2.1 Transtorno bipolar Tipo 1 .....	17
1.2.2 Transtorno Bipolar II .....	18
1.3 Comorbidades e aspectos biopsicossociais do paciente com TAB .....	19
1.4 Aspectos neurobiológicos do TAB .....	21
1.4.1 Genética .....	22
1.4.2 Neuroimagem .....	23
1.5 Fisiopatologia do TAB .....	24
1.5.1 Inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial .....	26
1.6 Tratamento farmacológico do TAB .....	28
1.7 Modelos Animais para o estudo do TAB .....	29
1.7.1 Modelo animal de mania induzido por Dimesilato de Lisdexanfetamina (LDX) ....	30
1.8 Carvedilol (CVD) .....	31
1.9 Justificativa .....	34
2.1 Objetivo Geral .....	35
2.2 Objetivos Específicos .....	35
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	36
3.1 Animais .....	36
3.2 Drogas utilizadas .....	36
3.3 Estratégia experimental .....	37
3.3.1 Protocolos de tratamento animal: grupos reversão, prevenção e controle .....	37
3.4 Testes de comportamento e neuroquímicos .....	41
3.4.1 Teste de campo aberto .....	41

3.4.2	<i>Teste de Interação social</i> .....	41
3.5	Testes Neuroquímicos.....	41
3.5.1	<i>Preparação de tecido</i> .....	42
3.5.2	<i>Determinação dos níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)</i> .....	42
3.5.3	<i>Determinação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i> ...	42
3.5.3	<i>Determinação dos níveis de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)</i> ....	43
3.6	<i>Análise estatística</i> .....	43
4.	RESULTADOS .....	44
4.1	<i>Carvedilol é capaz de prevenir e reverter a hiperlocomoção causada pelo dimesilato de lidexanfetamina (LDX) em ratos.</i> .....	44
4.2	<i>Carvedilol é capaz de prevenir e reverter as alterações na interação social de animais induzidas pelo modelo de mania por LDX.</i> .....	48
4.3	<i>A administração de CVD é capaz de prevenir e reverter as alterações nos níveis de Glutathiona Reduzida (GSH) induzidas por LDX no córtex pré-frontal e corpo estriado</i> ....	50
4.4	<i>A administração de CVD é capaz de prevenir e reverter as alterações nos níveis de peroxidação lipídica induzidas por LDX.</i> .....	52
4.5	<i>A administração de CVD é capaz de prevenir e reverter as alterações nos níveis da neurotrofina BDNF induzidas por LDX no hipocampo de ratos</i> .....	54
5	DISCUSSÃO .....	56
7	PERSPECTIVAS FUTURAS .....	64
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Transtorno Afetivo Bipolar

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) indicam que os transtornos mentais correspondem a 12% da carga mundial de doenças (SANTOS & SIQUEIRA, 2010). Nos Estados Unidos, estudos indicam taxas de prevalência de transtorno afetivo bipolar acima de 3,7% da população. No Brasil, a reanálise dos dados do Estudo de Área de Captação Epidemiológica mostraram uma prevalência ao longo da vida 8,3% nas diferentes formas de apresentações da doença (COSTA, 2008). Dados a cerca dessa doença revelam uma distribuição mundial uniforme, estima-se que o transtorno afetivo bipolar (TAB) afeta aproximadamente (1%) da população mundial (GOODWIN & JAMISON, 2007), e que amostras clínicas, provavelmente subestimam um real número de portadores da doença (TAYLOR *et al.*, 2011).

O TAB é um transtorno multifatorial com desenvolvimento de alterações neurofisiológicas progressivas (GEOFFROY *et al.*, 2013). Afeta similarmente homens e mulheres, onde na maioria dos casos, o primeiro episódio do transtorno aparece na juventude, antes dos 20 anos de idade, porém existem casos de diagnóstico de TAB na infância. Caracteriza-se como um transtorno de longa duração, episódico, potencialmente grave, alternando entre sintomas depressivos e maníacos em tempo, grau e intensidade diferentes (KAPCZINSKI & QUEVEDO, 2009).

Geralmente, há grande demora até o diagnóstico psiquiátrico correto de TAB. Estima-se uma espera de aproximadamente 10 anos para o fechamento de diagnóstico e a adequação da farmacoterapia para o paciente portador de TAB (TAYLOR *et al.*, 2011). Esse período entre diagnóstico correto e adequação da farmacoterapia aumenta os riscos de morte dos pacientes com TAB, principalmente pelas altas taxas de suicídio, principalmente associados à fase depressiva (COSTA, 2008), mas também por comorbidades desenvolvidas no curso da doença (KAPCZINSKI & QUEVEDO, 2009). A OMS afirma que TAB é a sexta causa de incapacidade e a terceira entre as doenças mentais entre jovens e adultos (COSTA, 2008).

O TAB foi primeiramente conceituado por Kraepelin, em 1913 que criou o conceito unitário kraepeliniano ao dicotomisar as psicoses endógenas e definir o conceito de “psicose



maníaco-depressiva” referindo-se a desordens afetivas, fornecendo os limites do que atualmente se considera o espectro bipolar. O reconhecimento dos estados mistos foi uma importante contribuição para embasar a ligação das duas fases da doença (KRAEPELIN, 1921). Kraepelin presumia que os conceitos dispostos por ele, passariam por influencia de novas pesquisas e da necessidade de observações clínicas para uma fundamentação mais objetiva da doença visando uma evolução do sistema classificatório dos transtornos mentais (CAMPOS *et al*, 2010).

Os maiores sistemas de diagnósticos por classificação a nível mundial são o CID-10 (Classificação Internacional de Doenças – 10ª edição) e o DSM-IV (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais da Associação Americana de Psiquiatria, 4ª edição) que são utilizados por médicos de todo mundo que estudam transtornos psiquiátricos, ambos sistemas, definem o TAB como um transtorno do humor (TAYLOR *et al*, 2011).

O DSM-IV define o TAB em duas condições: Transtorno Bipolar tipo 1 e Transtorno Bipolar tipo 2. O transtorno bipolar I apresenta um curso clínico caracterizado pela ocorrência de um ou mais episódios maníacos ou episódios mistos e com frequência, os indivíduos também alternam com um ou mais episódios de depressão maior. Já o transtorno bipolar II observa-se um quadro de hipomania ciclando com um ou mais episódios de depressão maior. A mania, hipomania e episódios mistos do TAB são as características cruciais para a diferenciação dos estados depressivos (depressão maior ou unipolar) (Figura 2) (DSM-IV, 1994).

O constructo do TAB passou por uma grande expansão nas décadas de 1990 e 2000, desde a promulgação do conceito do espectro do TAB por Akiskal e Mallya, onde até então, o TAB era considerado uma condição relativamente rara (MITCHELL, 2012).

O conceito da doença mental ao longo do tempo vem adquirindo extensão, visto que o número de transtornos classificadas pelo DSM mais que triplicou, passando de 106 distúrbios no DSM-I para 357 em DSM-IV. Embora este aumento reflita distinções mais precisas dos transtornos, possivelmente, essa expansão de diagnóstico também incida uma prevalência artificial de transtorno mental sobre o que poderia ser considerado dentro dos limites de saúde mental. Atualmente, com o novo DSM-5 move-se para alargar ainda mais o espectro de transtornos mentais, constitui-se uma realidade controversa ao princípio Kraepelinismo que a psiquiatria trata "*as pessoas que estão doentes e que necessitam de tratamento para doenças mentais*" (PIERRE, 2012).

## 1.2 Fenomenologia

Historicamente, desde o período grego clássico são feitas descrições de quadros de transtornos de humor e tentativas de conceituar transtornos psiquiátricos sob a perspectiva médica ou filosófica. Hipócrates, considerado O Pai da Medicina, desenvolveu a primeira classificação dos transtornos mentais, discriminando sistematicamente a mania, a melancolia e a paranoia. A primeira concepção histórica de bipolaridade foi descrita por Aretaeus da Capadócia, no século I d.C., que descreveu a mania e a melancolia como fenômenos diferentes da mesma doença (ANGST & MARNEROS, 2001; CAMPOS *et al.*, 2010).

Kraepelin, considerado criador da psiquiatria moderna, concentrou esforços para formar um sistema de classificação para transtornos mentais com base em descrições clínicas cuidadosas dos sintomas, forneceram as bases da nosologia psiquiátrica moderna (PIERRE, 2012). Em 1957, o termo bipolar foi usado pela primeira vez por Karl Leonhard para doenças compreendendo tanto sintomas maníacos e depressivos. Somente então, em 1980, o nome transtorno bipolar foi adotado pelo DSM para substituir o termo psicose maníaco-depressiva (PHILLIPS & KUPFER, 2013).

A quarta publicação do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM IV-TR) de acordo com a associação americana de psiquiatria foi realizada em julho do ano 2000. O DSM-V reacende as discussões sobre os especificadores mais significativos, curso clínico e a evolução em transtornos do humor. É necessário uma identificação clara e confiável das características da doença, que sejam clinicamente válidas e potencialmente associadas com biomarcadores do processo da doença subjacente, sendo informações determinantes para a prescrição do tratamento (GEOFFROY *et al.*, 2013). Porém, é necessário muitos estudos observacionais que avaliem os comportamentos de pacientes com transtornos psiquiátricos e que tornem a experiência do paciente compreensível de modo a classificá-lo e tratá-lo (KAPCZINSKI & QUEVEDO, 2009).

### 1.2.1 Transtorno bipolar Tipo 1

A característica essencial do transtorno bipolar I é um curso clínico caracterizado pela ocorrência de um ou mais episódios maníacos ou episódios mistos. Com frequência, os indivíduos também apresentam um ou mais episódios de depressão maior. Essa mudança na polaridade é definida como um curso clínico no qual um episódio depressivo maior evolui para um episódio maníaco ou um episódio misto ou o contrário (Figura 1) (DSM IV, 1994).

O suicídio em paciente com Transtorno Bipolar Tipo 1 ocorre em 10 a 15% dos indivíduos. Outros problemas estão associados a doença incluindo ausência à escola ou trabalho, repetência ou fracasso profissional, divórcio ou comportamento anti-social episódico. Outros transtornos mentais associados incluem anorexia nervosa, bulimia nervosa, transtorno de déficit de atenção/hiperatividade, transtorno de pânico, fobia social e transtornos relacionados a substâncias.

O Transtorno Bipolar I é recorrente, mais de 90% dos indivíduos que têm o primeiro episódio maníaco terão futuros episódios e aproximadamente 60 a 70% dos Episódios Maníacos frequentemente precedem ou se seguem a episódios depressivos Maiores.

Estudos do curso do Transtorno Bipolar I antes do tratamento de manutenção com lítio sugerem que, em média, quatro episódios ocorrem em 10 anos. Aproximadamente 5 a 15% dos indivíduos com Transtorno Bipolar I têm múltiplos (quatro ou mais) episódios de humor (Episódio Depressivo, Maníaco, Misto ou Hipomaníaco), que ocorrem dentro de um determinado ano. Se este padrão está presente é considerado como ciclagem rápida. Um padrão de ciclagem rápida está associado com um pior prognóstico.

### *1.2.2 Transtorno Bipolar II*

A característica essencial do Transtorno Bipolar II é um curso clínico marcado pela ocorrência de um ou mais Episódios Depressivos, acompanhados por pelo menos um episódio hipomaníaco.

Os sintomas do transtorno bipolar II causam sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo no funcionamento social ou ocupacional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo. Em alguns casos, os episódios hipomaníacos em si não causam prejuízo, no entanto, este pode decorrer dos episódios depressivos maiores ou de um padrão crônico de episódios imprevisíveis de humor e de um funcionamento interpessoal ou ocupacional flutuante e não confiável.

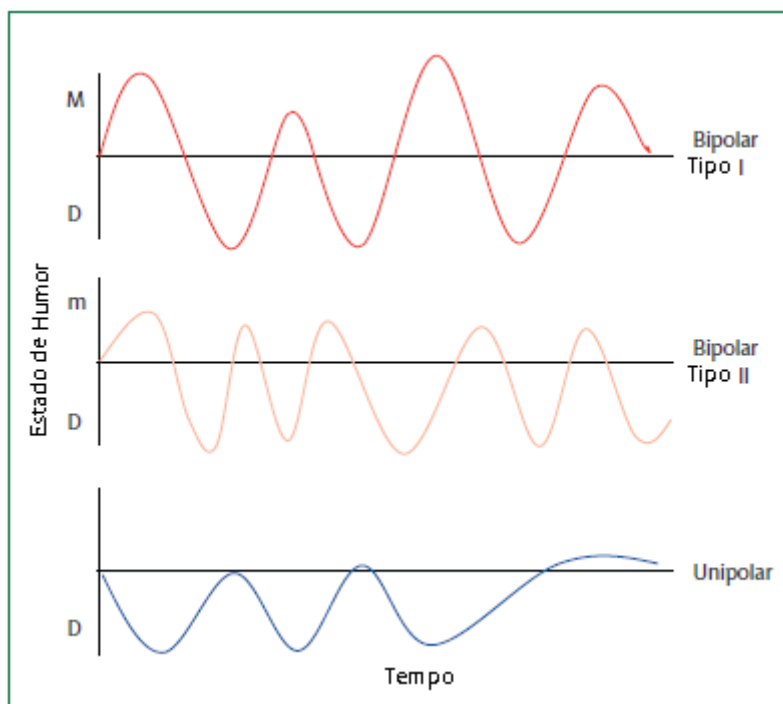
A maioria dos indivíduos com transtorno bipolar II podem não ver os episódios hipomaníacos como patológicos, embora outras pessoas possam sentir-se perturbadas pelo comportamento inconstante do indivíduo. Muitas vezes, particularmente quando em meio a um episódio depressivo maior, os indivíduos não se recordam dos períodos de hipomania se não forem lembrados por amigos íntimos ou parentes.

Os riscos de suicídio, comprometimento social e profissional e transtornos mentais associados são similares ao transtorno bipolar I.

Aproximadamente 60 a 70% dos episódios hipomaníacos no transtorno bipolar II ocorrem imediatamente antes ou após um episódio depressivo maior. Os episódios hipomaníacos frequentemente precedem ou se seguem aos Episódios Depressivos Maiores em um padrão característico para cada pessoa determinada.

Aproximadamente 5 a 15% dos indivíduos classificados com Transtorno Bipolar I e tipo II têm múltiplos (quatro ou mais) episódios de humor (Tipo I: Episódio Depressivo Maior, Maníaco, Misto ou Hipomaníaco; Tipo II: Hipomaníacos ou Depressivos), que ocorrem dentro de um determinado ano. Se este padrão está presente é considerado como ciclagem rápida. Um padrão de ciclagem rápida está associado com um pior prognóstico.

Embora a maioria dos indivíduos com TAB retorne a um nível plenamente funcional entre os episódios, alguns pacientes com diagnóstico do tipo I (cerca de 20 a 30%) e os do tipo II (aproximadamente 15%) continuam apresentando instabilidade do humor e dificuldades interpessoais ou ocupacionais. Sintomas psicóticos podem desenvolver-se dentro de dias ou semanas em um Episódio Maníaco ou Episódio Misto anteriormente não-psicótico.



**Figura 1 – Alterações de humor.** Transtorno afetivo bipolar tipo I, transtorno afetivo bipolar tipo II e transtorno depressivo unipolar recorrente. M = mania. m = hipomania. D = depressão. (PHILLIPS & KUPFER, 2013).

### 1.3 Comorbidades e aspectos biopsicossociais do paciente com TAB

A presença de comorbidades é comum em pacientes com TAB. A *World Mental Health Survey Initiative* estimou que 3 em cada 4 pacientes com TAB tenham pelo menos uma comorbidade associada, geralmente transtornos de ansiedade e de abuso de algum tipo de substâncias/álcool. Há evidências de que os transtornos de ansiedade tendem a preceder o início do TAB e transtornos de personalidade, como transtorno de personalidade Borderline, também podem constituir uma comorbidade importante, podendo fazer com que seja visto como um diagnóstico diferencial de TAB ou atrasar o reconhecimento da bipolaridade comorbida (TAYLOR *et al.*, 2011).

Pacientes com TAB têm mais riscos de desenvolver comorbidades clínicas como doenças cardiovasculares, diabetes, enxaqueca, transtornos alimentares, obesidade, hipotireoidismos, transtornos de personalidade e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (SANCHES *et al.*, 2005). As causas mais comuns de morte natural para pacientes com TAB são doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, essas doenças ocorrem em dobro da taxa de que na população em geral em relação a paciente com TAB (ROSHANAIEI-MOGHADDAM & KATON, 2009).

A insônia ou hipersonia são distúrbios do sono que estão entre os correlatos mais importantes de episódios de humor e ambos distúrbios do sono e no ritmo circadiano pode induzir a episódios de humor, portanto o sono possui papel crucial na estabilidade clínica de pacientes com TAB. Podendo o tratamento de distúrbios do sono servir tanto como um objetivo de tratamento e uma medida de resposta na mania (PLANTE & WINKELMAN, 2008).

Evidências crescentes apontam para a progressão da doença com o passar do tempo. Disfunções neuropsicológicas estão associadas com um curso pior quando há uma incidência recorrente de episódios agudos da doença, e mesmo nos estágios precoces o funcionamento cognitivo é prejudicado gerando forte impacto no desfecho funcional na vida do paciente (ROBINSON & FERRIER, 2006; TORRES *et al.*, 2011; ROSA *et al.*, 2009).

Observações realizadas em pacientes com TAB em estado eutímico (não há humor elevado ou depressivo) mostram que estes demonstram emoções em uma intensidade maior do que indivíduos controle sem alterações psiquiátricas. Estes pacientes relatam maior resposta emocional e limites mais baixos para respostas emocionais diante de eventos menores (HENRY *et al.*, 2008). A hiperreatividade emocional pode ser vista não apenas como

um fator de risco para recaídas, mas também como um marcador de traço para TAB (ZAHN *et al.*, 1989).

Estudos apontam desregulação temperamental em indivíduos com risco de transtornos afetivos, portanto o tipo de temperamento representaria importante indicador para a vulnerabilidade de desenvolver episódios depressivos maníacos. Postulando entre os temperamentos hipertímico, depressivo e irritado, mais especificamente o hipertímico, poderia servir como fenótipos proximais para o TAB (CHIARONI *et al.*, 2004).

Sinais comuns da mania incluem a diminuição da necessidade de sono, aumento das atividades, sendo mais sociáveis e apresentando pensamentos acelerados, enquanto que os sinais comuns da depressão são perda de interesse, não sendo capaz de colocar as preocupações de lado e sono interrompido (LAM & WONG, 2005). A figura 2 resume os sintomas apresentados pelo paciente nas fases da mania.

Um estudo prospectivo demonstrou forte correlação específica e moderada entre os sintomas maníacos e atrito interpessoal. Estudos anteriores transversais têm indicado que pacientes com sintomas de mania podem ter um maior impacto nos relacionamentos afetivos, e não só por causa do atrito interpessoal, mas também por gastos excessivos, falta de sono, aumento da atividade sexual e imprudência (MORRISS *et al.*, 2013).

#### **1.4 Aspectos neurobiológicos do TAB**

A fisiopatologia da TAB ainda não está clara, no entanto, as bases neurobiológicas incluem pesquisas relacionadas à genética, vias neuro-homonais, vias de transdução de sinal, estresse oxidativo, neuroplasticidade (KAPCZINSKI & QUEVEDO, 2009), disfunção mitocondrial e inflamação (GAMA *et al.*, 2013).

Estudos neuropatológicos (post-mortem) demonstraram diminuição da glia e da densidade e plasticidade neuronal, bem como alterações da neuroquímica intracelular (FREY *et al.*, 2004).

Os possíveis mecanismos da fisiopatologia do TAB incorporam-se a proposta teórica do modelo de neuroprogressão sugerida por Kapczinsk onde se acredita que os distúrbios sejam progressivos durante o curso da doença e que se agravam a cada novo surto da doença, o que faria muitos pacientes permanecerem em um estresse crônico, levando ao conceito de carga alostática para explicar os efeitos cumulativos de saúde perturbadores de episódios intermitentes e estressores (KAPCZINSKI *et al.*, 2008).

A teoria neurodesenvolvimental na etiologia dos transtornos mentais tem sido influente durante as últimas décadas para doenças como esquizofrenia, autismo e TAB, principalmente por essas doenças serem consideradas parte de um mesmo espectro de transtornos psiquiátricos e compartilharem muitos pontos de sua fisiopatologia. De acordo com esta teoria, ocorrem alterações no início do desenvolvimento cerebral, com manifestação clínica apenas na adolescência ou início da idade adulta. Considerável investigação tem incidido sobre as mudanças no cérebro e anomalias comportamentais que antecedem o início da doença (KINROS *et al.*, 2010).

**Tabela 1. Estágios da mania.**

	<b>Estágio I</b>	<b>Estágio II</b>	<b>Estágio III</b>
Humor	Lábil, eufórico, irritável se contrariado	Disforia e depressão, hostil e irado	Claramente disfórico, em pânico, desesperado
Pensamento e cognição	Expansivo, grandioso; hiperconfiante; pensamento acelerado, coerente ou tangencial; preocupações religiosas e sexuais	Fuga de idéias, desorganização, idéias deliróides	Incoerente, associações frouxas, bizarro, idiossincrásico, alucinações, desorientação idéias de referência idéias deliróides
Comportamento	Aceleração psicomotora, maior iniciativa de discurso, gastos, tabagismo e telefonemas excessivos	Hiperatividade, maior pressão do discurso, agressões físicas	Atividade frenética e bizarra
Sinonímia	Hipomania	Mania franca	Mania delirante (Psicose indiferenciada)

*Fonte: Carlson e Goodwin, 1973.*

**Figura 2 – Sintomas da Mania. Fonte: Moreno et al., 2009.**

#### 1.4.1 Genética

O TAB como outros transtornos do humor possui um importante componente genético em sua patogênese. Estudos revelam um maior risco de perturbações do humor em parentes de primeiro grau de paciente com TAB. Estimativas baseadas na união de vários estudos, apontam que os riscos relativos para TAB entre familiares de primeiro grau estejam próximos de 20% e 7% para desenvolvimento de depressão (TRIMBLE & GEORGE, 2010).

Um grande número de genes foram avaliados entre os genes que supostamente possam estar envolvidos com a hipótese genética sobre a patogênese do TAB e muitos outros, possivelmente, também podem estar ligados a doença por achados em estudos de citogenética.

Um grupo preponderante destes genes foi associados com o transtorno em estudos independentes incluindo o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro), DAOA (*D-amino acid oxidase activator*), Disc1 (*disrupted in schizophrenia 1*), GRIK4 (*glutamate receptor, ionotropic, kainate 4*), SLC6A4 (*solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, serotonin), member 4*) e TPH2 (Triptofano hidroxilase 2) (BARNETT & SMOLLER, 2009).

Recentemente, têm sido relatados em estudos de associação ampla de genoma em vários polimorfismos comuns, incluindo variantes dentro dos genes CACNA1C (calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit), ODZ4 (odz, odd Oz/ten-m homolog 4 (*Drosophila*)) e NCAN (neurocan). Existe uma forte evidência de uma contribuição poligênica para o risco do TAB (ou seja, muitos alelos de risco de pequeno efeito). Uma descoberta relevante é a sobreposição de suscetibilidade entre TAB e esquizofrenia. Há vários alelos de risco individuais e para o risco poligênico. Em contrapartida, a variação estrutural genômica parece desempenhar um papel menor no TAB do que na esquizofrenia (CRADDOCK & SKLAR, 2013).

A realidade clínica é que muitos indivíduos com doença psiquiátrica grave têm características que se enquadram entre esses dois extremos, tanto a alternância do humor (TAB) e características psicóticas (geralmente classificadas como transtorno esquizoafetivo ou algum atípico semelhante diagnóstico). Várias observações clínicas apoiadas em pesquisas genéticas sugerem a possibilidade de que não exista uma distinção clara entre fenótipos psiquiátricos da esquizofrenia biológica e TAB (CRADDOCK *et al.*, 2005).

#### 1.4.2 Neuroimagem

Estudos baseados em neuroimagem têm encontrado diminuição da substância cinzenta em regiões cerebrais corticais e aumento da ativação nas regiões límbicas ventrais. Os modelos atuais propõem que a base neurobiológica para a desregulação emocional do TAB está associada a anormalidades em estruturas fronto-límbico-subcorticais. A evolução clínica do TAB é refletida pela crescente evidência de mudanças nas estruturas cerebrais observadas nos indivíduos afetados com a doença. As anormalidades estruturais no cérebro são mais visíveis na fase crônica e nas formas recorrentes da doença (FREY *et al.*, 2013).

Uma diminuição significativa do metabolismo do córtex pré-frontal (CPF) durante a depressão e subsequente aumento em regiões do CPF durante a fase maníaca foram indicados

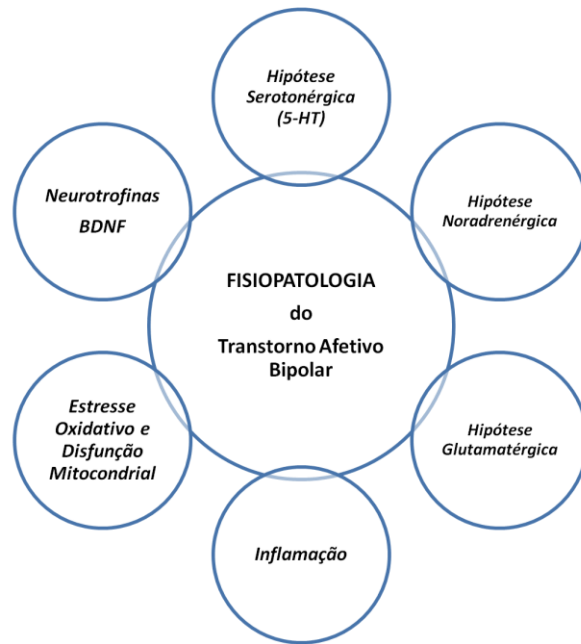


em estudos neurofuncionais, baseados em ressonância magnética funcional e tomografia por emissão de pósitrons (PET) (MALHI *et al.*, 2004). Estudos no hipocampo de indivíduos com TAB demonstraram redução do N-acetil-aspartato (um marcador de viabilidade neuronal) sugerindo uma redução no funcionamento dos neurônios dessa área (DEICKEN *et al.*, 2003; ATMACA *et al.*, 2007; BERTOLINO *et al.*, 2003).

Essas observações em imagens cerebrais permitem a noção de mudanças neuroprogressivas ao longo do curso da doença que baseia, em parte, a fundamentação da fisiopatologia do TAB (BERK *et al.*, 2011).

### **1.5 Fisiopatologia do TAB**

A principal hipótese bioquímica relativa aos transtornos afetivos foi inspirada por revoluções na psicofarmacologia em 1960. Uma hipótese emergente foi a de que a depleção nos níveis de monoaminas, Hipótese Serotonérgica (5-HT), relaciona-se com os transtornos depressivos. Em estudos clínicos foi observado o desencadeamento de sintomas depressivos em 20% dos pacientes em tratamento com reserpina (droga que causa depleção nas monoaminas). Em testes onde os pacientes foram tratados com precursores de aminas, em particular com triptofano e 5-Hidroxitriptofano (5-HTP), precursor da serotonina, demonstraram elevação do humor (TRIMBLE & GEORGE, 2010). Anormalidades em genes do sistema serotonérgico, assim como elevação de cálcio intracelular induzido por 5-HT são também achados neurobiológicos descritos na mania bipolar (MACHADO-VIEIRA *et al.*, 2005).



**Figura 1 – Vias neuroquímicas possivelmente envolvidas na neuroprogressão do Transtorno Afetivo Bipolar.** O princípio da neuroprogressão esta no desenvolvimento da doença por danos progressivos às bases biológicas envolvidas do TAB.

Várias linhas de evidências farmacológicas dão suporte à ideia que a neurotransmissão excessiva de dopamina está envolvida no desenvolvimento de sintomas maníacos. O aumento nos níveis de dopamina é importante desencadeador de estresse oxidativo no cérebro devido ao potencial redox da dopamina. A dopamina é metabolizada pela via oxidação de monoaminas e de hidroxilação enzimática. Ambas as vias tem o potencial de causar disfunção celular (BERK *et al.*, 2011).

Pacientes com TAB em episódio de mania tratados com valproato de sódio (VAL) apresentaram redução na captação de Fluorodopa (F-DOPA) uma forma fluorado de L-DOPA em estudos de tomografia por emissão de pósitrons (PET), o que sugere que após o uso do fármaco há uma diminuição na atividade na função dopaminérgica pré-sináptica (YATHAM *et al.*, 2002).

Níveis aumentados de noradrenalina têm sido encontrados em vários grupos de pacientes com transtornos do humor, especialmente naqueles pacientes com melancolia unipolar (Trimble e George, 2010). O conceito geral relaciona-se com aumento no *turnover* noradrenérgico na mania e diminuição na depressão. Contudo, a noradrenalina é também metabolizada periféricamente pelo sistema simpático o que pode dificultar a caracterização

desses achados como provenientes do sistema nervoso central (SNC) (MACHADO-VIEIRA *et al.*, 2005).

O sistema glutamatérgico também tem sido envolvido na fisiopatologia do TAB. Uma redução nos níveis de glutamina-glutamato após o tratamento com lamotrigina, um agente anti-glutamatérgico, leva a uma melhora quadro clínico de paciente com TAB, pois níveis aumentados de glutamina-glutamato se correlacionam com uma piora da gravidade dos sintomas, implicam adicionalmente, um papel da disfunção do sistema glutamatérgico na patologia subjacente ao TAB (BERK *et al.*, 2011). Fármacos estabilizantes do humor, como lítio (Li) e Valproato de sódio (VAL), exercem efeitos neuroprotetores contra a excitotoxicidade induzida por glutamato em cultura de neurônios (CUNHA, 2008).

Alterações em neurotrofinas como o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro), o bcl-2 que faz parte de uma família de genes que regulam a permeabilidade da membrana externa da mitocôndria e com propriedade anti-apoptótica, o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) também estão implicadas no TAB tendo papel relevante na sobrevivência e proliferação neuronal (BERK *et al.*, 2011).

Muitos estudos avaliando o BDNF apresentaram achados consistentes quanto seu envolvimento na fisiopatologia e neuroprogressão do TAB (Kapczinski *et al.*, 2008; Kapczinski *et al.*, 2008; Grande *et al.*, 2010). Reduções nos níveis de BDNF são relacionados ao estado de mania e depressão (CUNHA *et al.*, 2006) tanto em pacientes tratados como não os não tratados farmacologicamente (DE OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Um estudo de meta-análise (FERNANDES *et al.*, 2011) mostrou que durante os estados maníaco e depressivo em indivíduos com episódios mais graves os níveis de BDNF estão reduzidos e que níveis normais de BDNF diminuem paulatinamente com a idade e com progressão da doença. Estudos sugerem fortemente que a normalização dos níveis de BDNF podem ser associados à estabilização clínica desse transtorno (GRANDE *et al.*, 2010).

#### *1.5.1 Inflamação, estresse oxidativo e disfunção mitocondrial*

Vários estudos em pacientes demonstraram que durante episódios maníacos e depressivos os níveis de biomarcadores de inflamação estão elevados (HAMDANI *et al.*, 2012). Em condições fisiológicas, mediadores inflamatórios não são capazes de atravessar livremente a barreira hematoencefálica. Porém, esses mediadores podem influenciar o SNC

através de rotas alternativas como a ativação de células endoteliais e outras células de revestimento da vasculatura cerebral. Depois dos sinais de citocinas atingirem o SNC, uma rede complexa formada de neurônios e elementos gliais amplificam o efeito produzindo mais citocinas e aumento da expressão de seus receptores (TEIXEIRA *et al.*, 2013).

As citocinas podem levar a sintomas de humor por vários mecanismos, um deles envolve o metabolismo de neurotransmissores, como a serotonina, norepinefrina, dopamina e glutamato, em regiões do cérebro, como o sistema límbico (amígdala, o hipocampo e o núcleo accumbens), essenciais para a regulação da emoção, recompensa e funções psicomotoras. Além disso, as citocinas podem afetar diretamente a atividade neuronal, induzindo aumento da excitabilidade neuronal e alterações na neuroplasticidade (MILLER *et al.*, 2009).

Desequilíbrios no estresse oxidativo tem sido considerado um achado biológico importante na fisiopatologia do TAB. Vários estudos têm investigado a participação dos marcadores de estresse oxidativo e alterações em enzimas antioxidantes, peroxidação lipídica e os níveis de NO (óxido nítrico) no TAB (ANDREAZZA *et al.*, 2007); (KUNZ *et al.*, 2008).

Fármacos estabilizadores do humor, como o lítio, valproato (VAL), carbamazepina e lamotrigina mostraram a capacidade de suprimir ciclooxigenase-2 (COX2) e prostaglandina (PGE2) no cérebro, o que fortalece o papel importante do estresse oxidativo e processo inflamatório no TAB (GOLDSTEIN *et al.*, 2009).

Pacientes com TAB tratados com lítio apresentam diminuição dos níveis de Ácido tiobarbitúrico (TBARS) e enzima superóxido dismutase (SOD), e aumento dos níveis de catalase (CAT) (KHAIROVA *et al.*, 2012), enquanto os indivíduos saudáveis expostos ao lítio não apresentam as mesmas alterações, esses achados sugerem que estas mudanças de estresse oxidativo pode ser associado com os efeitos terapêuticos do lítio no TAB (MACHADO-VIEIRA *et al.*, 2007).

Os neurotransmissores dopamina e glutamato envolvidos na fisiopatologia do TAB também induzem indiretamente o estresse oxidativo, aumento de espécies reativas de oxigênio (EROS) e um aumento do cálcio intracelular (BERK *et al.*, 2011). O aumento de dopamina é uma importante fonte de estresse oxidativo no cérebro e o glutamato desempenha um papel importante na mediação do equilíbrio oxidativo, e ainda, aumento nos níveis de glutamato pode resultar em excitotoxicidade mediada pela produção de espécies reativas, seguindo o influxo de cálcio (BERK *et al.*, 1994; BERK *et al.*, 2000).

É crescente o interesse na possibilidade de que os defeitos no genoma mitocondrial possam desempenhar um papel importante nas doenças psiquiátricas (ANGLIN *et al.*, 2012). Diferentes dados sugerem que as disfunções mitocondriais podem estar envolvidas na fisiopatologia de diversos distúrbios neuropsiquiátricos, em função do seu papel crucial no metabolismo da energia celular, como também participam de funções tais como sinalização, a diferenciação celular, a morte celular, bem como o controle do ciclo celular e crescimento celular (MARAZZITI *et al.*, 2012).

As mitocôndrias desempenham um papel-chave na produção de energia celular. O produto final deste processo é o trifosfato de adenosina (ATP), utilizado como uma fonte de energia química. As disfunções mitocondriais contribuem significativamente para o processo de apoptose neuronal que estão na base dos distúrbios neurodegenerativos, tais como esquizofrenia, demência de Alzheimer e as formas mais graves de TAB. Esses achados sugerem que medicamentos que protejam contra o estresse oxidativo também possam preservar a mitocôndria de estresse oxidativo e prevenir disfunções (MARAZZITI *et al.*, 2012).

Atualmente, um modelo teórico de neuroprogressão postulado por Kapczinski é bastante aceito entre a comunidade científica, baseado na hipótese de que os neurônios e outras células cerebrais sofrem danos gradativos a partir do primeiro episódio mais intenso da doença ou mesmo antes do primeiro episódio. Portanto, a doença teria uma alteração neurodegenerativa progressiva por múltiplos mecanismos que envolveria os já citados: estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, inflamação, alterações em neurotrofinas e nos sistemas dopaminérgico e glutamatérgico (BERK *et al.*, 2011; KAPCZINSKI *et al.*, 2011; GAMA *et al.*, 2013).

## **1.6 Tratamento farmacológico do TAB**

Embora as orientações para o tratamento farmacológico no TAB sejam bem estabelecidas, o tratamento continua não sendo o ideal. Muitos dos pacientes em tratamento ainda têm episódios de avanço ou residuais com significativos sintomas mesmo já em uso medicação (LU *et al.*, 2012). Classes farmacológicas como estabilizantes do humor, antipsicóticos e antidepressivos são descritas no tratamento do TAB. Algumas drogas são

mais usadas em transtornos de humor, particularmente, o lítio (Li) e valproato (VAL) que são estabilizantes do humor de primeira linha no tratamento do TAB.

O lítio é considerado padrão ouro no tratamento sendo utilizado para o TAB há mais de 60 anos (WANG *et al.*, 2011). Amplamente utilizado tanto nos episódios maníacos agudos e na profilaxia de episódios maníacos e depressivos. Lítio tem vários mecanismos de ação em neurônios, que incluem a modulação de canais de íons e transportadores de membrana, bem como a inibição de enzimas intracelulares, tais como monofosfato de inositol, fosfoglucomutase, a proteína quinase C (PKC), e Glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK3 $\beta$ ). O lítio protege os neurônios contra uma variedade de insultos, um efeito que foi atribuído à inibição da GSK3 $\beta$ . Adicionalmente, o lítio possui ação anti-suicida independente (SANI *et al.*, 2012).

O Valproato (VAL) foi exibido pela primeira vez por mostrar robusto efeito anti-inflamatório no mesencéfalo em co-cultura de neurônio-glia estimuladas com lipopolissacarídeo (LPS), conforme comprovado pela supressão da secreção de TNF- $\alpha$  e produção de óxido nítrico. Estudos confirmaram que o tratamento prévio com VAL atenua o dano e o déficit neurológico em pacientes com acidente vascular cerebral (AVC), em modelos de isquemia cerebral em ratos tanto transitório e como permanente (WANG *et al.*, 2011). O alvo de ação primário do VAL são as histonas deacetilase que induzem a transcrição e expressão neurotrófica, angiogênese e proteínas neuroprotetoras. O controle dos mecanismos que podem ser nocivos como as cascatas de sinalização e vias de estresse oxidativo podem favorecer a sobrevivência celular e podem justificar as ações benéficas do VPA (CHIU *et al.*, 2013).

Os tratamentos com Li e VAL exercem efeitos neuroprotetores contra citotoxicidade, inibindo o glutamato induzido aumentando a concentração de Ca<sup>2+</sup> livre intracelular. Estudos mostraram que o VAL pode estabilizar o cálcio intracelular em células com elevados níveis de cálcio mitocondrial. A liberação excessiva de glutamato por metanfetamina (m-AMPH) pode induzir dano neuronal através sobrecarga do receptor de cálcio (Ca<sup>2+</sup>) intracelular e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) (FEIER *et al.*, 2013).

## **1.7 Modelos Animais para o estudo do TAB**

A pesquisa pré-clínica no campo dos transtornos mentais tem sido utilizada principalmente com objetivo de auxiliar na elucidação dos mecanismos neurobiológicos dos transtornos mentais, reconhecer o potencial terapêutico de novas drogas e analisar as vias do mecanismo de ação dos psicofármacos. Atualmente, os modelos animais têm sido considerados um dos pilares da pesquisa para o desenvolvimento de novas drogas. Estima-se que mais de 70% dos principais avanços biomédicos estão relacionados à experimentação com animais. Visto que o TAB não possui sua neurobiologia elucidada, além do caráter cíclico dos episódios de mania e depressão, isto dificulta a validação de modelos animais que contemplem fielmente toda a sintomatologia da doença (ANDREATINI, 2002).

Um dos primeiros modelos animais de mania foi proposto por El-Mallakh e colaboradores como um modelo agudo de mania e consiste na injeção intracerebroventricular de ouabaína, uma droga inibidora da bomba  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  - ATPase (EL-MALLAKH *et al.*, 2003). Posteriormente, outro modelo proposto de mania consistia na administração de D-anfetamina (D-ANF) que se tornou um dos modelos farmacológicos mais amplamente utilizados para o estudo da mania, sendo o fenótipo comportamental observado o da hiperatividade (FREY *et al.*, 2006).

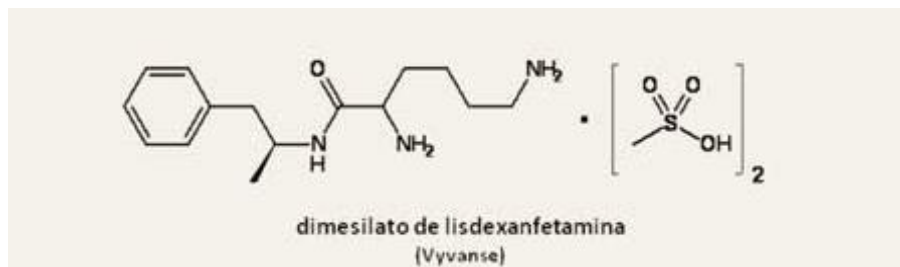
#### *1.7.1 Modelo animal de mania induzido por Dimesilato de Lidexanfetamina (LDX)*

A anfetamina é uma droga estimulante do sistema nervoso central (SNC) que atua gerando hiperfunção do sistema dopaminérgico, aumentando a liberação de dopamina, assim, induzindo quadros psicóticos (BRESSAN *et al.*, 2001).

Muitos sinais e sintomas característicos na fase de mania relacionados com o TAB podem ser reproduzidos em modelos animais com estimulantes dopaminérgicos como anfetaminas ou cocaína. Em modelo animal com ratos, a administração de anfetamina induz a insônia, hiperlocomoção e maior expressão do desejo sexual que são as alterações comportamentais que se assemelham a manifestações da fase maníaca do TAB humano (FIORINO & PHILLIPS, 1999).

Dessa forma o Dimesilato de lidexanfetamina (LDX) (Vyvanse®) é um pró-fármaco que requer a conversão em D-anfetamina (D-ANF) para obter bioatividade e reproduzir efeitos que reportam ao uso de anfetamina (Figura 5). Como o tratamento com D-ANF induz hiperlocomoção, o uso da LDX foi recentemente proposto por nosso grupo de pesquisa como

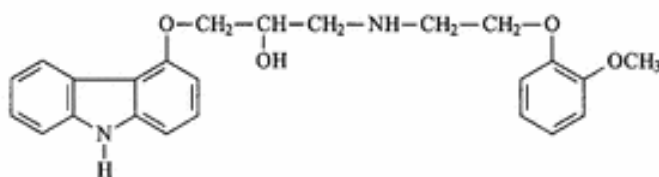
um modelo animal de mania bipolar, como também mencionado anteriormente (Figura 2) (MACEDO *et al.*, 2013).



**Figura 4 – Estrutura Molecular do Dimesilato de lidexanfetamina (LDX) (Vyvanse ®)**

### 1.8 Carvedilol (CVD)

O carvedilol (CVD) é uma ariloxipropanolamina, cujo nome químico é (1 - [carbazolil-(4)-oxi] -3 - [(2-methoxyphenoxyethyl) amino]-propanol-(2)) (Figura 6) (OLIVEIRA *et al.*, 2003). Essa droga é um antagonista multifuncional neuro-hormonal que tem mostrado capacidade de fornecer maiores benefícios do que os tradicionais beta-bloqueadores usados para o tratamento de hipertensão leve à moderada e insuficiência cardíaca (CHIZZOLA *et al.*, 2000) além de possuir ação antioxidante (ARZAL *et al.*, 2010). Seu uso tem sido mostrado ser capaz de reduzir significativamente a mortalidade em eventos cardiovasculares e acidente vascular cerebral em comparação a pacientes fazendo uso do metoprolol (DINICOLANTONIO *et al.*, 2013).



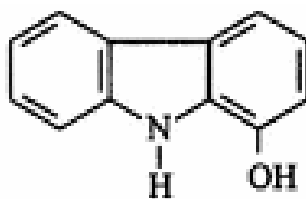
**Figura 5 – Estrutura molecular do Carvedilol . (STOJANOVIĆ *et al.*, 2005).**

O CVD é um bloqueador não seletivo dos receptores adrenérgicos com múltiplas ações pleiotrópicas incluindo antioxidante, vasodilatador, inibidor de apoptose, anti-inflamatório, ação protetora mitocondrial, a inibidor não-competitivo do receptor de NMDA e bloqueador do canal de cálcio (Kumar *et al.*, 2011). O CVD também tem sido mencionado



como neuroprotetor em vários modelos de acidente vascular cerebral focal transitória e um potencial cardioprotetor em vários modelos de cardiovascular isquemia e reperfusão. Estes efeitos estão relacionados com o seu potencial antioxidante e propriedades para captar radicais livres (SAVITZ *et al.*, 2000).

Os primeiros estudos sobre as propriedades antioxidantes deste composto indicaram que ele é mais potente na inibição na produção de hidroxilas (OH) do que outros antagonistas beta-adrenérgicos onde o mecanismo principal resulta da inibição da peroxidação lipídica que se dá principalmente através de eliminação de radicais livres. O efeito antioxidante tem sido atribuído largamente à sua estrutura carbazol, e seus metabólitos hidroxilados (Figura 7) que têm capacidade antioxidante maior quando comparados ao próprio CVD, alguns de seus metabólitos são cerca de 50 a 100 vezes mais potentes do que o próprio CVD (YUE *et al.*, 1992).



**Figura 6 – Estrutura molecular de 4-hidroxicarbazol.** (STOJANOVIĆ *et al.*, 2005).

O propranolol também beta-bloqueador, foi utilizado em ensaio clínico aplicado a pacientes agressivos hospitalizados cronicamente com transtornos mentais como esquizofrenia e transtornos de personalidade, seguido por um estudo duplo-cego onde se demonstrou a eficácia desta droga para reduzir o comportamento agressivo (SILVER *et al.*, 1999).

A capacidade do CVD em preservar os antioxidantes endógenos foi avaliada em homogenatos de cérebro, onde o hidróxido (OH) induziu rápida depleção (80%) de alfa-tocoferol uma vitamina lipossolúvel da família da vitamina E, um antioxidante natural que previne o dano celular ao inibir a peroxidação lipídica e a formação de radicais livres. O CVD mostrou-se mais potente antioxidante que os outros betabloqueadores avaliados neste estudo (YUE *et al.*, 1992). O CVD causa uma diminuição da geração de EROS nos eritrócitos, indiretamente acarretando um menor consumo de enzimas antioxidantes e isso poderia ser um mecanismo adicional de proteção (KOWALSKI *et al.*, 2008).

Um estudo avaliou o potencial do CVD de fornecer proteção durante a hipóxia e reoxigenação do miocárdio, condições que sabe estarem associadas a um aumento de cálcio e de estresse oxidativo na célula. Os resultados permitiram afirmar que o CVD inibe a transição de permeabilidade mitocondrial (TPM) por um significativo mecanismo antioxidante, impedindo a oxidação de grupos tiólicos protéicos (P-SH) iniciador do processo de formação de poros protéicos e que levam por fim à TPM. A liberação dos fatores pró- apoptóticos no espaço intermembranar mitocondrial e a perda da capacidade de síntese de ATP pela mitocôndria estão intimamente ligados à inibição de fenômenos de morte celular e prevenção da disfunção mitocondrial, uma vez que a indução destes processos sofrem forte influencia da prevenção da transição de permeabilidade mitocondrial dependente de cálcio gerada pelo CVD (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

O CVD reduziu citocinas pró-inflamatórias em pacientes com insuficiência cardíaca (IC) tratados a longo prazo com esta droga. Nestes pacientes houve aumento dos níveis de interleucina 10 (IL-10), uma citocina anti-inflamatória e inibidora de macrófago ativado, e também, uma redução dos níveis de interleucina 18 (IL-18), citocina pró-inflamatória produzida principalmente por macrófagos. No estudo supracitado, o uso do CVD resultou em uma redução de nove vezes do IL-18 em relação a IL-10 e atingindo valores semelhantes aos indivíduos saudáveis (ALFIERI *et al.*, 2008).

## 1.9 Justificativa

O TAB é uma doença crônica, grave e incapacitante. A prevalência de TAB é estimado em 1-5%, dependendo somente se tipo 1 ou 2 ou ambos, enquanto que a média de idade de início da doença é de cerca de 20 anos. A expectativa de vida funcionalmente ativa é reduzida em pacientes com TAB, como resultado das altas taxas de suicídio e aumento de comorbidade clínicas como problemas cardiovasculares (TEIXEIRA *et al.*, 2013), inclusive estando entre as principais causas de morte (LEBOYER & KUPFER, 2010).

O prognóstico da doença é geralmente ruim visto que multiplas condições onde os pacientes possuem perdas cognitivas, desequilíbrio nas interações sociais, humor flutuante e alterações orgânicas como disfunção do sono/vigília, além do risco maior de desenvolver comorbidades psiquiátricas e clínicas (GEOFFROY *et al.*, 2013), sendo os episódios de mania os mais relacionados à neuroprogressão.

Além das comorbidades cardiovasculares sabe-se ainda que a fisiopatologia do TAB envolve desequilíbrio oxidativo, alterações glutamatérgicas, estresse oxidativo, inflamação e disfunção mitocondrial sendo estas alterações responsáveis também pela neuroprogressão desse transtorno (BERK *et al.*, 2011). Da mesma forma, o tratamento farmacológico do TAB ainda é limitado, principalmente pelo fato das drogas apresentarem muitos efeitos colaterais e até mesmo tolerância (MUNEER, 2013).

Tendo em vista as considerações acima, a ação do CVD pode ser particularmente relevante para a manutenção/tratamento do TAB em ambos os ciclos da doença, mania e depressão, podendo vir a ser uma alternativa farmacológica como coadjuvante, aos tratamentos já estabelecidos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar o efeito preventivo e terapêutico do carvedilol e da associação entre carvedilol e valproato no modelo animal de mania do transtorno afetivo bipolar induzido por dimesilato de lisdexanfetamina em ratos.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Analisar os efeitos comportamentais do carvedilol e da associação entre carvedilol e valproato no modelo animal de mania do TAB através dos testes de campo aberto e interação social;
- Determinar as alterações nos níveis da neurotrofina BDNF dos animais submetidos ao modelo de mania e tratados com o carvedilol e com a associação entre carvedilol e valproato;
- Avaliar as alterações oxidativas através da determinação dos níveis de glutathione reduzida (GSH) e peroxidação lipídica (TBARS) nos animais submetidos ao modelo de mania e tratados com o carvedilol e com a associação entre carvedilol e valproato.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos *Wistar*, machos adultos (180-250g), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC), ambientados em grupos de 8 animais em caixas de propileno 26 ± 2 °C, a ciclo claro/escuro de 12 h, recebendo ração padrão e água “*ad libitum*”. Os experimentos foram conduzidos de acordo com a Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará - CEPA, salientando que todos os esforços foram feitos para minimizar o sofrimento dos animais. A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal (CEPA) da UFC, com protocolo nº 65/2012.

#### **3.2 Drogas utilizadas**

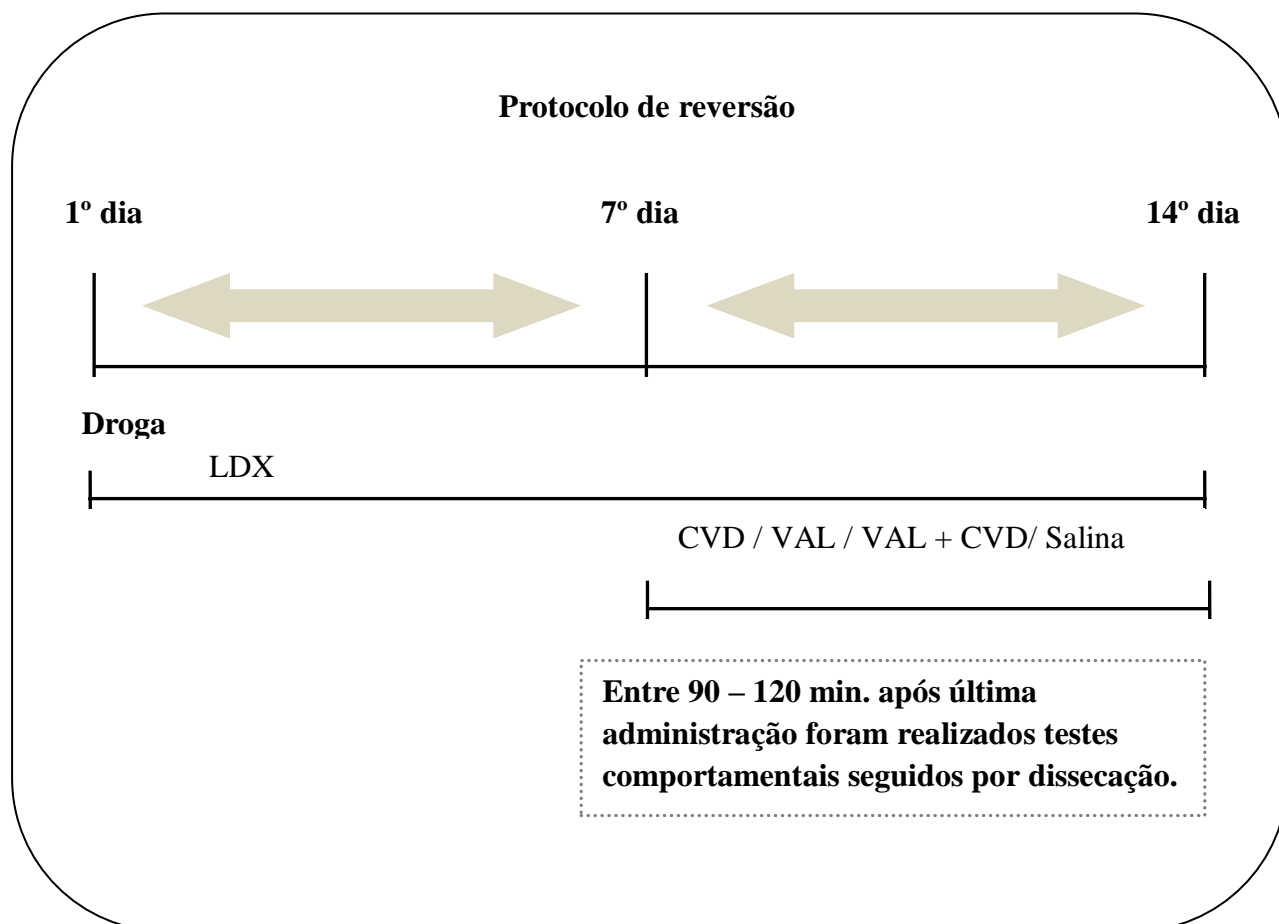
Dimesilato de lisdexanfetamina (LDX; Vyvanse®, Shire, EUA), Valproatro de sódio (VAL; Depakote®; Abbot Laboratories Argentina S.A. Buenos Aires, Argentina), carvedilol (CVD; Ictus®; Biolab Sanus farmacêutica LTDA. Taboão da Serra, São Paulo) foram os fármacos utilizados.

Para indução da mania foi utilizado o LDX na dose de 10mg/kg animal por via oral (v.o) uma vez ao dia. O ácido valpróico foi administrado na dose de 200 mg/kg animal por via intraperitoneal (i.p) duas vezes ao dia. O CVD foi utilizado nas doses de 2,5 mg/kg, 5mg/kg e 7,5mg/kg por v.o . As soluções foram preparadas diariamente e foram diluídas em solução salina (NaCl 0,9%).

### 3.3 Estratégia experimental

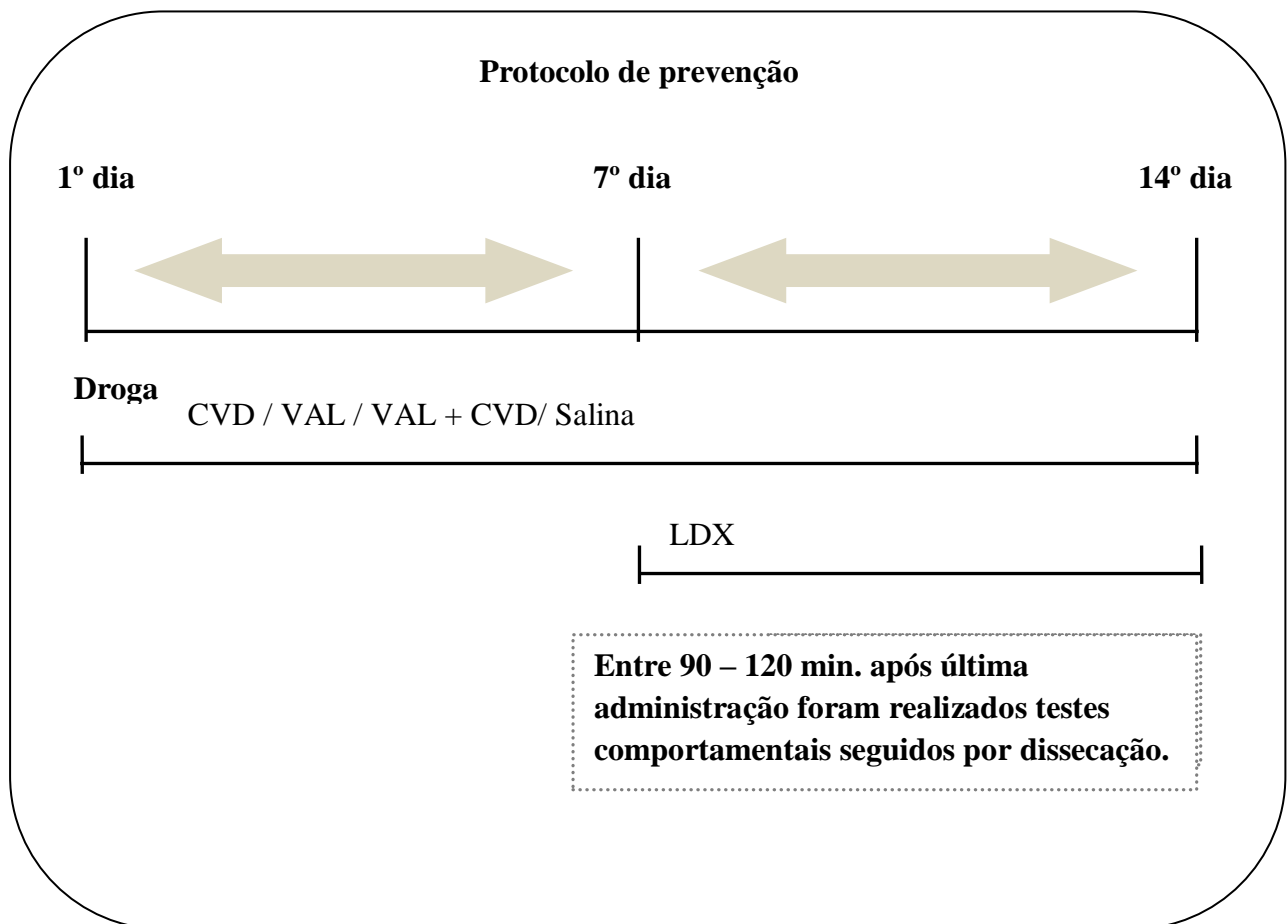
#### 3.3.1 Protocolos de tratamento animal: grupos reversão, prevenção e controle

**Protocolo grupo reversão** – No modelo de reversão buscou-se reproduzir o estado de episódios maníacos agudos no TAB. Os animais foram divididos em seis grupos com 8 animais, dos quais foram tratados com a dose de 10mg/kg animal com LDX durante 14 dias administrado v.o 1 vez ao dia para indução da mania. Entre o 8º ao 14º dia os diferentes grupos de animais receberam os seguintes tratamentos: grupo 1) Valproato de sódio (2 vezes ao dia por via i.p); grupo 2) CVD 2,5 mg/kg, grupo 3) 5mg/Kg, grupo 4) 7,5mg/Kg 1 vez ao dia por v.o); grupo 5) VAL 100mg/kg com CVD 5mg/kg e grupo 6) solução salina (1 vez ao dia por v.o).



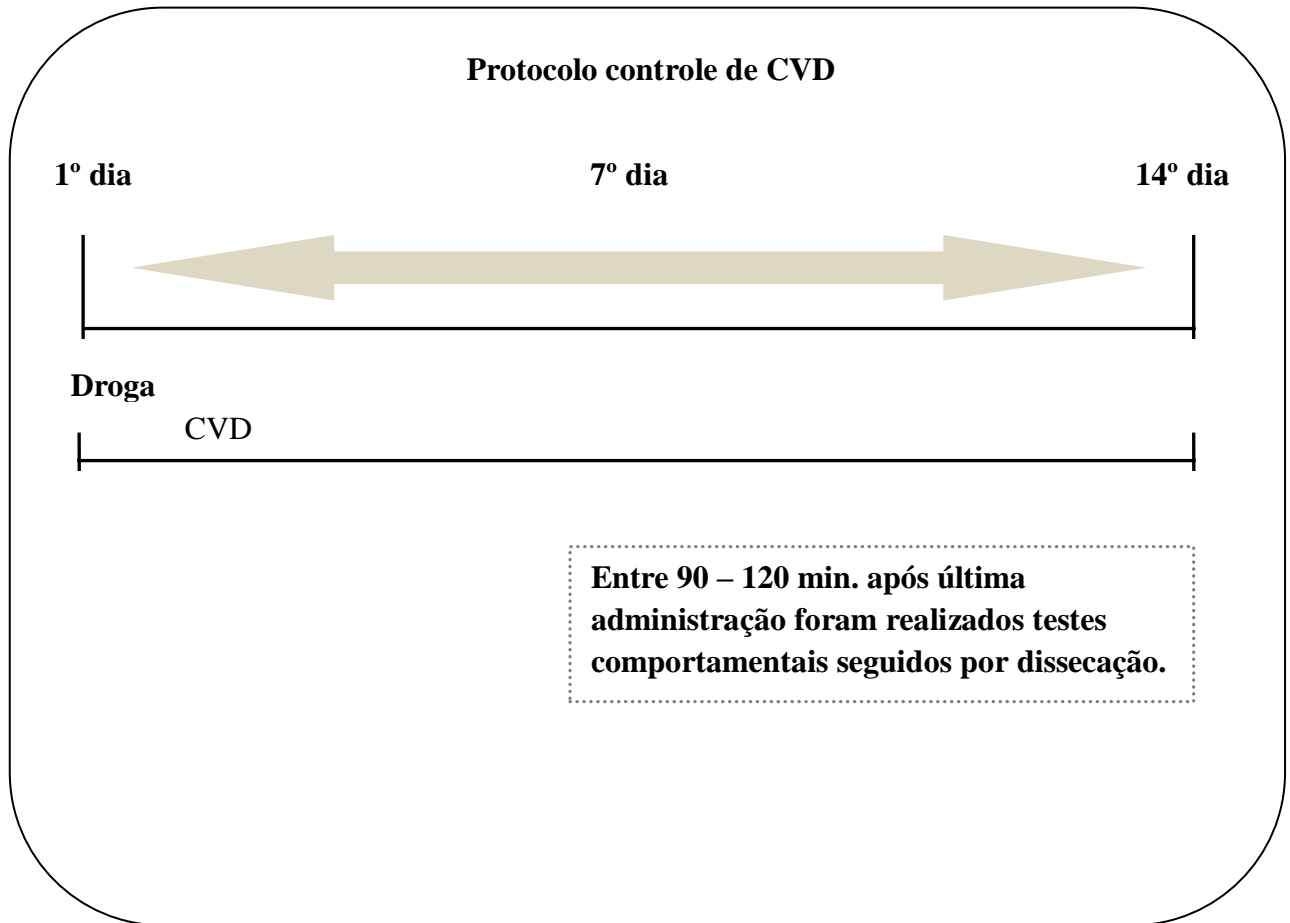
**Figura 7** – Protocolo do tratamento de reversão.

**Grupo Prevenção** – No modelo de prevenção foi simulado nos grupos o período de manutenção do tratamento TAB. Os animais foram divididos em seis grupos com 8 animais tratados com: grupo 1) Valproato de sódio (2 vezes ao dia por via i.p); grupo 2 CVD 2,5 mg/kg, grupo 3) CVD 5mg/Kg, grupo 4) CVD 7,5mg/Kg (1 vez ao dia por v.o); grupo 5) VAL 100 mg/kg com CVD 5mg/kg e grupo 6) solução salina (1 vez ao dia por v.o) e do 8° ao 14° dia foi administrado de o LDX administrada v.o 1 vez ao dia.



**Figura 8** – Protocolo de tratamento de prevenção.

**Grupo Controle** – Três grupos de 8 animais foram tratados durante 14 dias somente com uma das 3 doses escolhidas do CVD para avaliar os efeitos da droga no cérebro do animal.

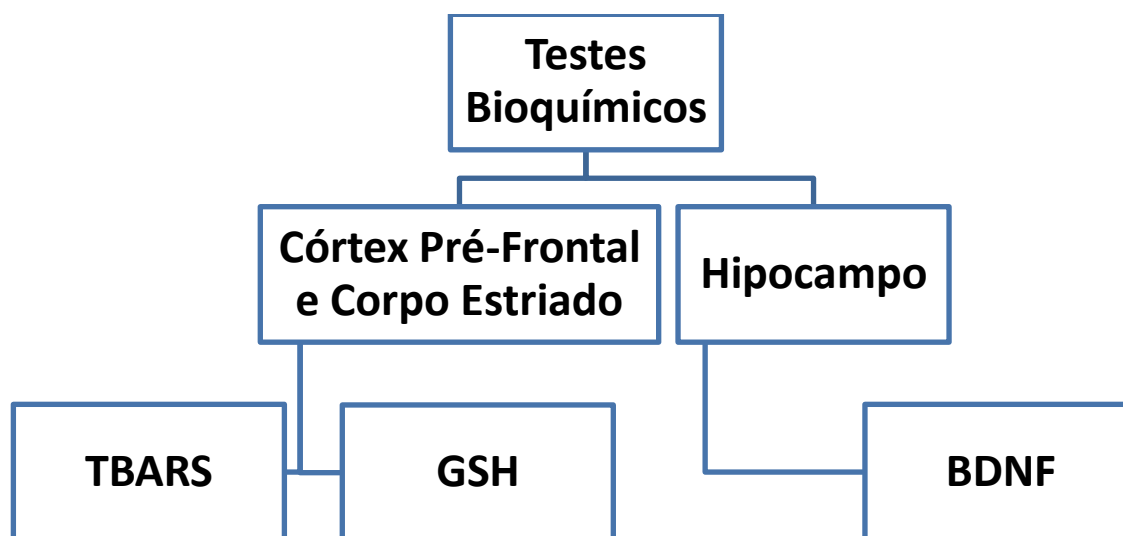


**Figura 2** – Protocolo de tratamento do grupo controle.



Foram utilizados testes para avaliar o comportamento animal (Interação Social) e hiperlocomção (Campo Aberto). Os testes foram realizados no 14º dia de tratamento 2 horas e após a administração da droga.

Após o último dia de tratamento, no 14º dia, foram realizados os testes comportamentais e em seguida a dissecação dos animais. Foi esperado um período para avaliação de 2h de acordo com os protocolos experimentais nos quais o pico de efeito comportamental da LDX ocorreu em 90 – 120 min após a administração da droga, voltando aos níveis de controle 195 min após a administração (ROWLEY *et al.*, 2012). Em modelo animal de mania utilizando D-anfetamina o período de 120 min também é estabelecido para avaliação das alterações comportamentais (FREY *et al.*, 2006). Os animais foram sacrificados por decapitação por guilhotina, sem uso prévio de anestésicos, e as áreas cerebrais dissecadas para avaliação bioquímica foram: corpo estriado (CE), córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo (HP). Em seguida as áreas serão acondicionadas em -80 °C até o dia dos testes bioquímicos.



**Figura 30** – Testes bioquímicos aplicados nas áreas cerebrais.

### **3.4 Testes de comportamento e neuroquímicos**

#### *3.4.1 Teste de campo aberto*

A atividade locomotora foi avaliada através do teste de campo aberto (ARCHER, 1973). Este teste foi realizado em um campo de 50 cm × 50 cm rodeado por paredes de 50 cm de altura feito de acrílico. O chão do campo aberto foi dividido em quatro partes iguais por linhas pretas. O aparelho foi colocado em uma sala com luz vermelha. Os animais foram cuidadosamente colocados no centro do campo e foi permitido que eles explorassem livremente o cenário por 1 min (período de habituação). Cruzamentos das linhas pretas *crossings* (utilizado para determinar a atividade horizontal) foram quantificados por 5 minutos, bem como *rearings* (utilizado para determinar a atividade vertical).

#### *3.4.2 Teste de Interação social*

A avaliação da interação social do animal em teste se dá em uma caixa acrílica (60 x 40 cm) dividida em três câmaras retangulares, onde as paredes divisórias possuem uma pequena passagem (6×6 cm) que permite o livre acesso a cada câmara. O princípio do teste baseia-se na livre escolha por um rato a passar o tempo em qualquer um dos três compartimentos da caixa durante 5 minutos experimentais, onde em uma das câmaras o rato em estudo terá contato indireto com um animal desconhecido que está dentro de uma gaiola de tamanho capaz de conter um único rato e que permite um pequeno contato entre os animais. A segunda câmara funciona como câmara intercessora entre a câmara com o animal desconhecido e a câmara vazia. Para quantificar as tendências sociais do rato em teste, as principais tarefas são para medir: a) o tempo gasto na câmara com rato estranho e b) tempo gasto na câmara vazia. Assim, o delineamento experimental deste teste permite avaliação aspectos críticos, mas distinguíveis de comportamento social, tais como a motivação a interação social. Sociabilidade, neste caso, é definida como a propensão a gastar tempo com outro rato, em comparação com o tempo gasto sozinho em um espaço idêntico, porém onde a câmara esta vazia. A preferência por novidade sociais é definido como a propensão a gastar tempo com um rato previamente desconhecido em vez de com um rato familiarizado (KUTI & PAGE, 2011). A preferência social foi definida da seguinte forma: (% o tempo gasto no social câmara) - (tempo de permanência na câmara oposta%) (PARKER-ATHILL *et al.*, 2009).

### **3.5 Testes Neuroquímicos**

Conforme citado anteriormente, os testes neuroquímicos foram realizados para a determinação dos níveis de GSH, TBARS e da neurotrofina BDNF.

### *3.5.1 Preparação de tecido*

As amostras de tecido cerebral foram homogeneizadas (10 vezes (w/v) arrefecidas com gelo, com 0,1 M de tampão fosfato (pH 7,4). Os homogenatos foram centrifugados a 10.000 rpm durante 15 minutos, e alíquotas dos sobrenadantes foram separados e usados para a determinação dos parâmetros de estresse oxidativo.

### *3.5.2 Determinação dos níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)*

Os níveis de Glutathiona Reduzida foram avaliados para estimar defesas endógenas contra o estresse oxidativo. O método é baseado na reação de reagente de Ellman (DTNB), com grupos tiol livres. As áreas do cérebro foram diluídas em tampão de 0,02 M de EDTA (10% w / v) e adicionadas a uma solução de ácido tricloroacético a 50%. Após centrifugação (3000 rpm/15 min), o sobrenadante do homogeneizado foi recolhido e os níveis de GSH foram determinados (SEDLAK & HANUS, 1982). Resumidamente, as amostras foram misturadas com 0,4 M de tampão tris-HCl, pH 8,9 e 0,01 M de DTNB. Níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculada com base numa curva padrão de glutathiona e expressos como ng de GSH / g de tecido úmido.

### *3.5.3 Determinação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)*

O grau de lipoperoxidação nos tecidos foi medido através da determinação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme o método descrito por HUANG e colaboradores (1998), seguindo o protocolo: As amostras foram homogeneizadas com tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM pH 7,4, 63µL do homogenato foi misturado a 100 µL de ácido perclórico 35%, sendo estas centrifugadas (7000 rpm/15 min), no qual 150 µL do sobrenadante foram recuperados e misturado com 50 µL de ácido tiobarbitúrico 1,2%, e em seguida, estas amostras foram aquecidas em um banho de água fervente por 30 min. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada por absorvância a 535 nm e foi expressa como mmol tecido MDA / g. A concentração de proteínas foi medida utilizando o método de Bradford (1976).

Para a obtenção da curva-padrão de malonildialdeído (MDA), a partir da solução padrão de MDA, foram preparadas diluições em série (16,77; 9,16; 4,8; 2,463; 1,247 e 0,627

$\mu\text{mol}$ ). O branco foi feito com água destilada. A leitura da absorbância foi realizada a 520 e 535 nm, o valor utilizado foi a subtração da leitura em 535 da leitura em 520, para determinação da equação da curva-padrão de MDA.

### *3.5.3 Determinação dos níveis de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)*

Após homogeneização das áreas cerebrais a 20 volumes de tampão PBS pH 7,4 foi adicionado inibidores de protease (Sigma-Aldrich), o nível de BDNF de cada amostra foi quantificado por ensaio imunoenzimático (ELISA; R&D Systems, USA) de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em picograma de BDNF/ mg de proteína total determinada pelo método de Lowry (1951).

### *3.6 Análise estatística*

O software utilizado para análise dos dados foi o GraphPad Prism versão 5.0 para Windows, GraphPad Software (San Diego, CA, EUA).

Os resultados dos estudos comportamentais e neuroquímicos foram expressos como a média  $\pm$  EPM (erro padrão da média) dos números de cruzamentos e levantamentos no teste de campo aberto e teste de interação social. Estes dados foram avaliados por comparação múltipla dos parâmetros utilizando análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls para medir nível de significância entre os grupos. Para todas as análises ser o nível de significância foi  $p < 0,05$ .

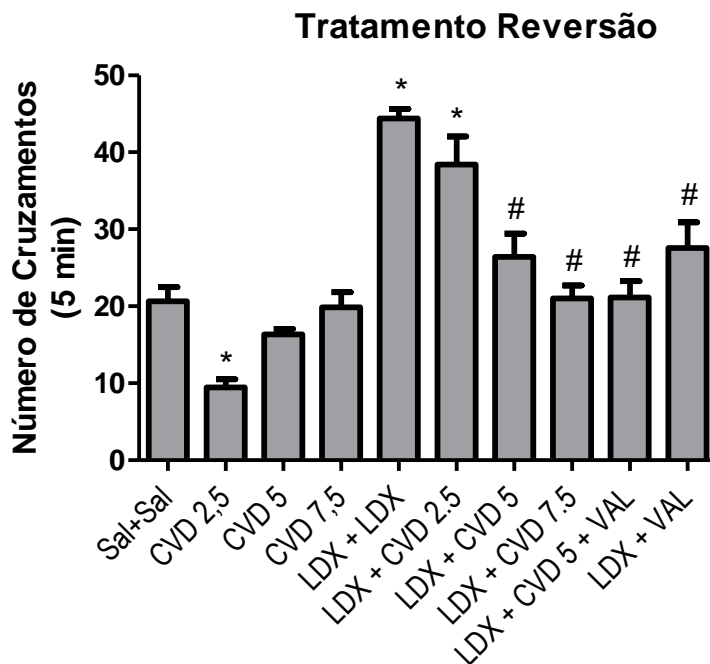
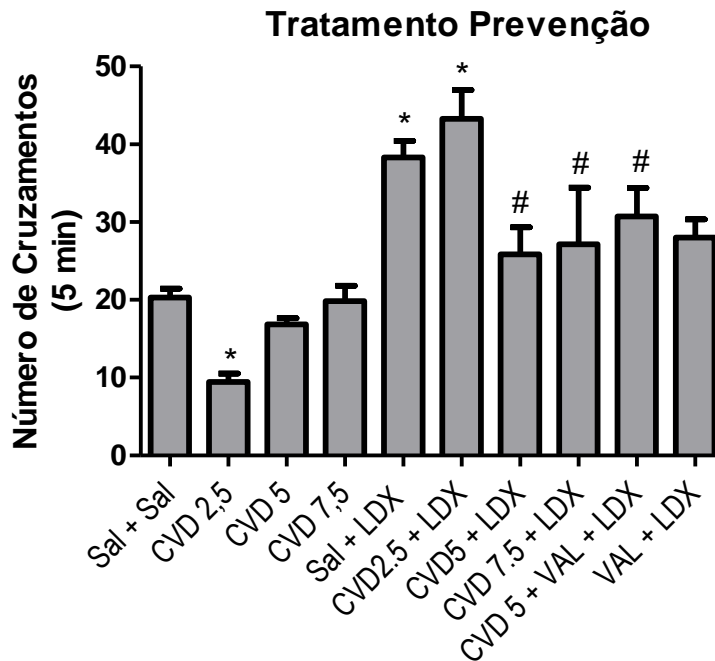
## 4. RESULTADOS

### 4.1 *Carvedilol é capaz de prevenir e reverter a hiperlocomoção causada pelo dimesilato de lidexanfetamina (LDX) em ratos.*

Conforme esperado a administração da LDX causou hiperlocomoção em relação aos animais tratados com salina (controles) ( $F = 8,408$ ,  $df = 3$ ,  $P < 0,0001$ ) (Figura 12).

No protocolo de prevenção a administração diária de LDX 10mg/kg induziu um aumento significativo na atividade locomotora horizontal ao final dos 14 dias de protocolo ( $38,3 \pm 2,1$ ) em comparação ao grupo controle ( $20,3 \pm 1,1$ ). O pré-tratamento com CVD 2,5mg/kg não foi capaz de prevenir a hiperlocomoção induzida por LDX ( $43,3 \pm 3,7$ ). Os animais pré-tratados com CVD 5mg/kg ( $25,8 \pm 3,5$ ), CVD 7,5 mg/kg ( $27,2 \pm 7,3$ ) e CVD5+VAL100mg/kg ( $30,7 \pm 3,7$ ) apresentaram redução significativa da atividade locomotora em comparação com o grupo tratado com LDX, enquanto o pré-tratamento com VAL não causou alterações significativas em comparação ao controle nem ao tratado com LDX. O CVD 2,5 mg/kg sozinho também foi capaz de reduzir a atividade locomotora ( $9,4 \pm 1,1$ ) quando comparado ao grupo controle.

No protocolo de reversão a administração diária de LDX 10mg/kg durante 14 dias de tratamento induziu um aumento significativo na atividade locomotora horizontal ( $44,4 \pm 1,2$ ) em comparação ao grupo controle ( $20,7 \pm 1,8$ ). Conforme ocorrido no protocolo de prevenção o pós-tratamento com CVD 2,5 mg/kg ( $38,4 \pm 3,7$ ) não apresentou diferença significativa na locomoção em comparação com o grupo tratado com LDX. Já o pós-tratamento com CVD 5mg/kg ( $26,4 \pm 3,0$ ), CVD 7,5mg/kg ( $21 \pm 1,7$ ) e CVD5+VAL100mg/kg ( $21,1 \pm 2,1$ ) e VAL ( $27,6 \pm 3,3$ ) foi capaz de reverter a hiperlocomoção induzida por LDX. A administração do CVD 2,5 sozinho causou redução da locomoção em relação ao grupo controle ( $9,4 \pm 1,1$ ).

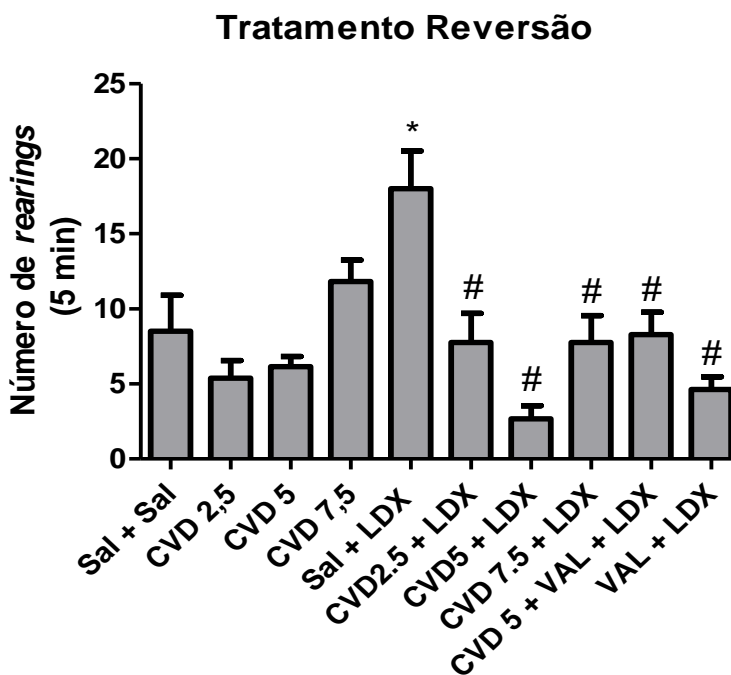
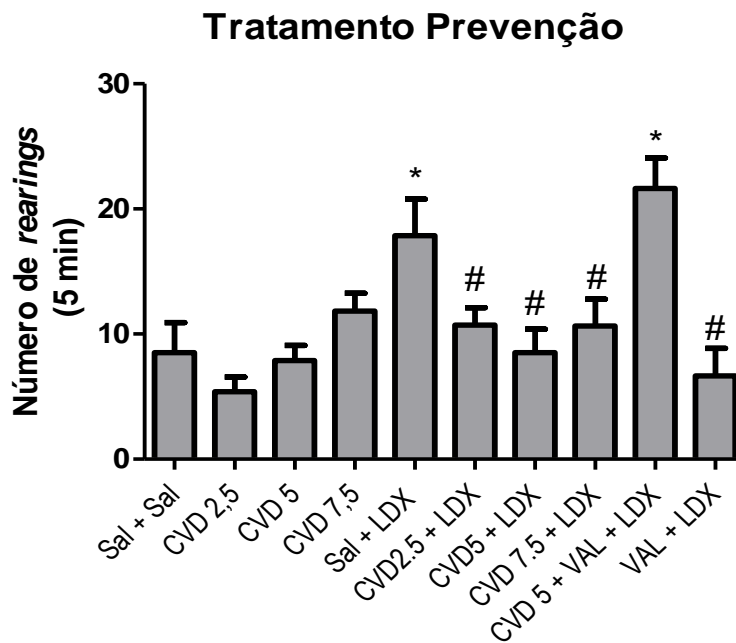


**Figura 11– Atividade locomotora dos animais submetidos aos protocolos de Prevenção e Reversão.** As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média do número de crossings (Sal = Salina; CVD = carvedilol; LDX = lisdexametamina; VAL = valproato). \* $p < 0,05$  versus grupo Controle; # $p < 0,05$  versus grupo LDX + Sal ou LDX+LDX de acordo com ANOVA, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

#### 4.2 *Carvedilol é capaz de prevenir e reverter as alterações na atividade vertical (rearings) causadas pelo dimesilato de lidexanfetamina (LDX) em ratos.*

A avaliação da atividade vertical do animal (número de *rearings*) (Figura 13) nos grupos submetidos ao protocolo de prevenção mostrou que a administração diária de LDX 10mg/kg induziu um aumento significativo do número de *rearings* ao final dos 14 dias de tratamento ( $17,9 \pm 2,9$ ) em comparação ao grupo controle ( $8,5 \pm 2,4$ ). Os grupos pré-tratados com CVD 2,5mg/kg ( $10,7 \pm 1,4$ ), CVD 5mg/kg ( $8,5 \pm 1,9$ ), CVD 7,5mg/kg ( $10,6 \pm 2,2$ ) e VAL ( $6,7 \pm 2,2$ ) apresentaram redução significativa no número de *rearings* em comparação ao grupo LDX. O grupo tratado com CVD5+VAL100mg/kg ( $21,6 \pm 2,4$ ) não apresentou diferença significativa em comparação ao grupo LDX. Os grupos administrados apenas CVD não apresentaram alteração significativa no número de *rearings* em comparação ao controle (CVD 2,5 mg/kg –  $5,4 \pm 1,2$ , CVD 5 mg/kg –  $7,9 \pm 1,2$  e CVD 7,5 mg/kg –  $11,8 \pm 1,4$ ).

No protocolo de reversão a administração diária de LDX 10mg/kg induziu um aumento significativo do número de *rearings* ao final dos 14 dias de tratamento ( $18 \pm 2,5$ ) em comparação ao grupo controle ( $8.500 \pm 2.405$ ). Os grupos pós-tratados com CVD 2,5mg/kg ( $7,8 \pm 2$ ), CVD 5mg/kg ( $2,7 \pm 0,9$ ), CVD 7,5mg/kg ( $7,8 \pm 1,8$ ), CVD5+VAL100mg/kg ( $8,3 \pm 1,5$ ) e VAL ( $4,6 \pm 0,8$ ) apresentaram redução significativa no número de *rearings* em comparação com o grupo LDX. Os grupos administrados apenas CVD não apresentaram alterações no número de *rearings* (CVD 2,5 mg/kg –  $5,4 \pm 1,2$ ), CVD 5mg/kg –  $6,2 \pm 0,7$ ), CVD 7,5mg/kg -  $11,8 \pm 1,4$ ) em relação ao grupo controle.



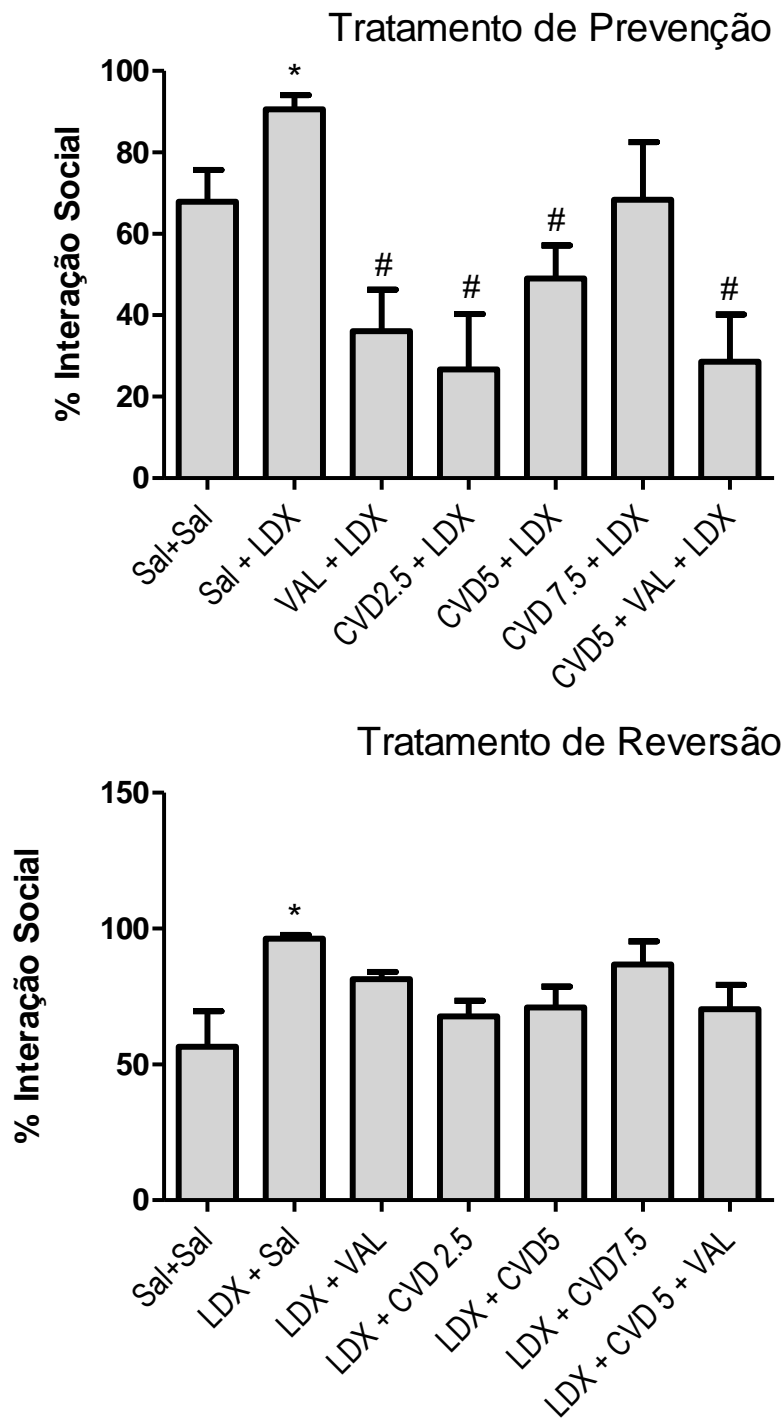
**Figura 12 – Número de rearings nos protocolos de Prevenção e Reversão.** As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média do número de rearings (Sal = Salina; CVD = carvedilol; LDX = lisdexamfetamina; VAL = valproato). \* $p < 0,05$  versus grupo Controle; # $p < 0,05$  versus grupo LDX + Sal ou LDX+LDX de acordo com ANOVA, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.



#### *4.2 Carvedilol é capaz de prevenir e reverter as alterações na interação social de animais induzidas pelo modelo de mania por LDX.*

O teste de interação social permite avaliação do comportamento social através da motivação à interação social, medida pela preferência e tempo de permanência do animal em câmara de sociabilidade. Nos grupos submetidos ao protocolo de prevenção o tratamento com LDX ( $90,5 \pm 3,5$ ) causou aumento da interação social dos animais em comparação aos controles ( $67,9 \pm 7,9$ ). O pré-tratamento com CVD 2,5 mg/kg + LDX ( $26,7 \pm 13,6$ ), CVD 5mg/kg + LDX ( $49,0 \pm 8,1$ ), CVD 5mg/kg+VAL + LDX 100mg/kg ( $28,6 \pm 11,7$ ) e VAL + LDX ( $36,1 \pm 10,2$ ) reduziu a interação social em relação aos animais administrados somente LDX. Os animais tratados com CVD 7,5 mg/kg + LDX ( $68,3 \pm 14,2$ ) apresentaram interação social semelhante ao grupo controle.

Nos grupos submetidos ao protocolo de reversão ocorreu aumento do % de interação social dos animais tratados com LDX ( $96,3 \pm 1,4$ ) em relação aos controles ( $56,6 \pm 13,0$ ). Todos os grupos pós-tratados com CVD apresentaram % de interação social comparáveis aos do grupo controle (LDX + CVD 2,5 mg/kg –  $67,7 \pm 5,7$ , LDX + CVD 5mg/kg –  $70,9 \pm 7,8$ ; LDX + CVD7,5 mg/kg –  $86,8 \pm 8,5$ ; LDX + CVD 5mg/kg+VAL 100mg/kg –  $70,3 \pm 9,0$ ) e LDX + VAL 200mg/kg+LDX –  $81,4 \pm 2,7$ ).



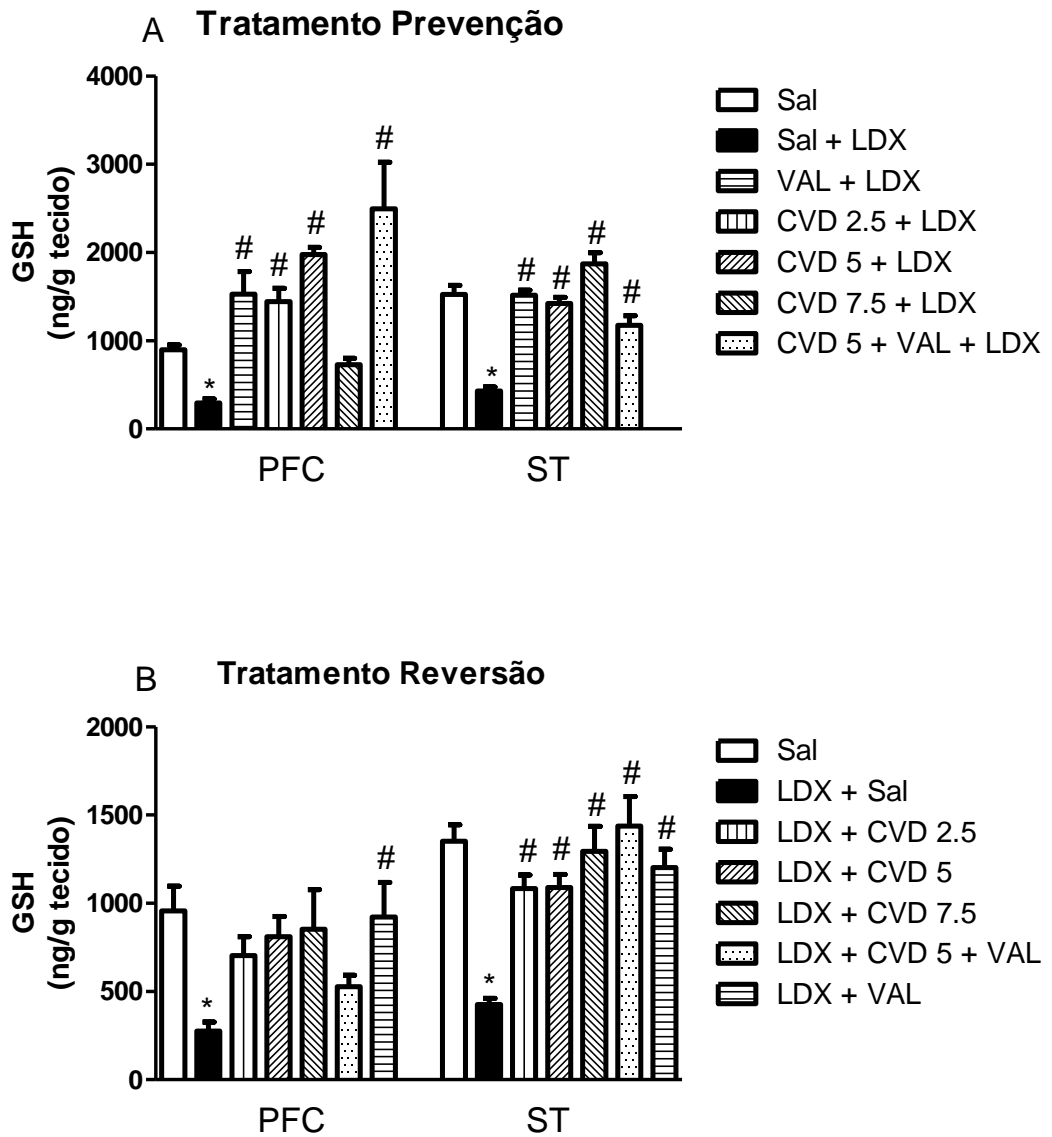
**Figura 13 – Percentual de interação social nos protocolos de Prevenção e Reversão.** As barras representam a média ± erro padrão da média do % de interação social (Sal = Salina; CVD = carvedilol; LDX = lisdexamfetamina; VAL = valproato). \* $p < 0,05$  versus grupo Controle; # $p < 0,05$  versus grupo LDX + Sal ou LDX+LDX de acordo com ANOVA, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

#### *4.3 A administração de CVD é capaz de prevenir e reverter as alterações nos níveis de Glutathiona Reduzida (GSH) induzidas por LDX no córtex pré-frontal e corpo estriado*

Como pode ser observado na figura 15, no córtex pré-frontal (PFC) dos grupos submetidos ao protocolo de prevenção a administração diária de LDX 10mg/kg causou uma redução significativa nos níveis de GSH ( $295,5 \pm 47,5$ ) quando comparado ao grupo controle ( $897,8 \pm 53,3$ ). O pré-tratamento com CVD 2,5 mg/kg + LDX ( $1445 \pm 150,1$ ), CVD 5mg/kg + LDX ( $1980 \pm 77,5$ ) e CVD5+VAL100mg/kg + LDX ( $2497 \pm 527,2$ ) foi capaz de prevenir significativamente as alterações causadas por LDX. O grupo pré-tratado com CVD 7,5mg/kg + LDX ( $729,2 \pm 73,7$ ) não apresentou diferença significativa com o grupo LDX. No corpo estriado (ST) a administração de LDX também causou redução significativa nos níveis de GSH em comparação ao grupo controle (controle:  $1523 \pm 104,1$ ; LDX:  $430,8 \pm 44$ ). O pré-tratamento com CVD 2,5 + LDX mg/kg ( $1423 \pm 70,6$ ), CVD 5mg/kg + LDX ( $1871 \pm 127,2$ ), CVD 7,5 mg/kg + LDX ( $1175 \pm 109$ ), VAL ( $1514 \pm 61,9$ ) + LDX e CVD5+VAL100mg/kg + LDX foi capaz de prevenir a queda dos níveis de GSH induzida por LDX.

No tratamento de reversão a administração diária de LDX 10mg/kg ( $275,1 \pm 52,59$ ) reduziu significativamente os níveis de GSH no PFC. O pós-tratamento com CVD 2,5mg/kg ( $704,3 \pm 106,7$ ); CVD 5mg/kg ( $810,7 \pm 115,8$ ); CVD 7,5mg/kg ( $851,7 \pm 225,3$ ) e CVD5mg/kg+VAL10mg/kg ( $527,4 \pm 65,42$ ) não alterou este parâmetro em relação ao grupo LDX. Apenas o pós-tratamento com VAL ( $922,5 \pm 196,3$ ) foi capaz de reverter significativamente a queda dos níveis de GSH induzida por LDX.

No ST no protocolo de reversão observou-se que o conteúdo de GSH diminuiu significativamente nos animais tratados com LDX 10 mg/kg quando comparados ao grupo controle (Controle :  $1353,2 \pm 92,4$ ; LDX 10mg:  $425,0 \pm 34,4$ ) ( Figura 15). Todos os pós-tratamentos propostos no presente estudo foram capazes de reverter as alterações induzidas por LDX nesta área cerebral (LDX + CVD 2,5mg/kg -  $1083 \pm 76,75$ ; LDX + CVD 5mg/kg -  $1090 \pm 73,84$ ; LDX + CVD 7,5mg/kg -  $1294 \pm 142,2$ ); LDX + VAL -  $1023 \pm 104,1$ ) e LDX + CVD 5 + VAL -  $1438 \pm 167,3$ ).



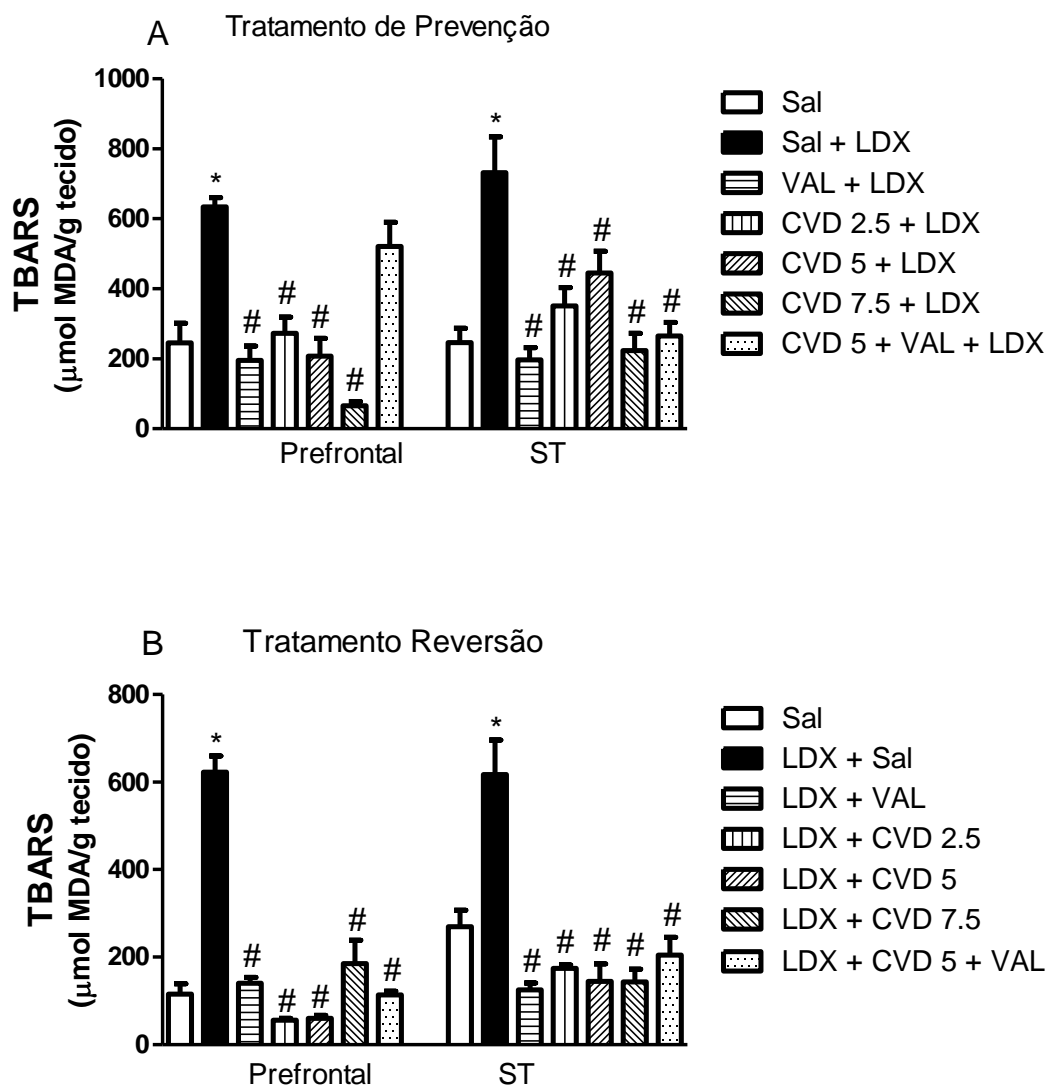
**Figura 14 – Níveis de glutatona reduzida (GSH) no córtex pré-frontal (PFC) e corpo estriado (ST) nos animais submetidos aos protocolos de Prevenção e Reversão.** As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média dos níveis de GSH (Sal = Salina; CVD = carvedilol; LDX = lisdexamfetamina; VAL = valproato). \* $p < 0,05$  versus grupo Controle; # $p < 0.05$  versus grupo LDX + Sal ou LDX+LDX de acordo com ANOVA, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

#### *4.4 A administração de CVD é capaz de prevenir e reverter as alterações nos níveis de peroxidação lipídica induzidas por LDX.*

Como pode ser observado na figura 16, no córtex pré-frontal (PFC) dos grupos submetidos ao protocolo de prevenção a administração diária de LDX 10mg/kg causou um aumento significativo nos níveis de MDA ( $634,2 \pm 26,68$ ), uma medida da peroxidação lipídica, quando comparado ao grupo controle ( $245,1 \pm 56,78$ ). O pré-tratamento com CVD 2,5 mg/kg + LDX ( $272,7 \pm 46,6$ ) e CVD 5mg/kg + LDX ( $207,9 \pm 50,6$ ) foi capaz de prevenir significativamente as alterações causadas por LDX. O grupo pré-tratado com CVD 7,5mg/kg + LDX ( $66,4 \pm 11,5$ ) apresentou a maior diferença com relação ao grupo LDX. A administração de CVD5+VAL100mg/kg + LDX ( $521 \pm 69,3$ ) não foi capaz de prevenir esta alteração. No corpo estriado (ST) a administração de LDX também causou aumento significativo nos níveis de MDA em comparação ao grupo controle (controle:  $246,1 \pm 41,4$ ; LDX:  $732,1 \pm 102,2$ ). O pré-tratamento com CVD 2,5 + LDX mg/kg ( $351,3 \pm 52,05$ ), CVD 5mg/kg + LDX ( $445,1 \pm 61,8$ ), CVD 7,5 mg/kg + LDX ( $224 \pm 49,03$ ), VAL + LDX ( $196,9 \pm 35,1$ ) e CVD5+VAL100mg/kg + LDX ( $265,4 \pm 38,1$ ) foi capaz de prevenir o aumento nos níveis de peroxidação lipídica induzido por LDX.

No tratamento de reversão a administração diária de LDX 10mg/kg ( $623,2 \pm 36,8$ ) aumentou significativamente os níveis de peroxidação lipídica no PFC. O pós-tratamento com CVD 2,5mg/kg ( $55,8 \pm 4,6$ ); CVD 5mg/kg ( $60,6 \pm 6,4$ ); CVD 7,5mg/kg ( $184,8 \pm 53,4$ ) e CVD5mg/kg+VAL10mg/kg ( $113,8 \pm 8,6$ ) e VAL ( $140,1 \pm 13,8$ ) foi capaz de reverter as alterações neste parâmetro causadas pela LDX.

No ST no protocolo de reversão observou-se que o conteúdo de MDA aumentou significativamente nos animais tratados com LDX 10 mg/kg quando comparados ao grupo controle (Controle :  $269,7 \pm 37,6$ ; LDX 10mg:  $617,1 \pm 79$ ). Todos os pós-tratamentos propostos no presente estudo foram capazes de reverter as alterações induzidas por LDX nesta área cerebral (LDX + CVD 2,5mg/kg -  $174,1 \pm 8,4$ ; LDX + CVD 5mg/kg -  $144 \pm 40,1$ ; LDX + CVD 7,5mg/kg -  $143,1 \pm 29,3$ ); LDX + VAL -  $125,2 \pm 15,8$ ) e LDX + CVD 5 + VAL -  $204,2 \pm 40,8$ ).



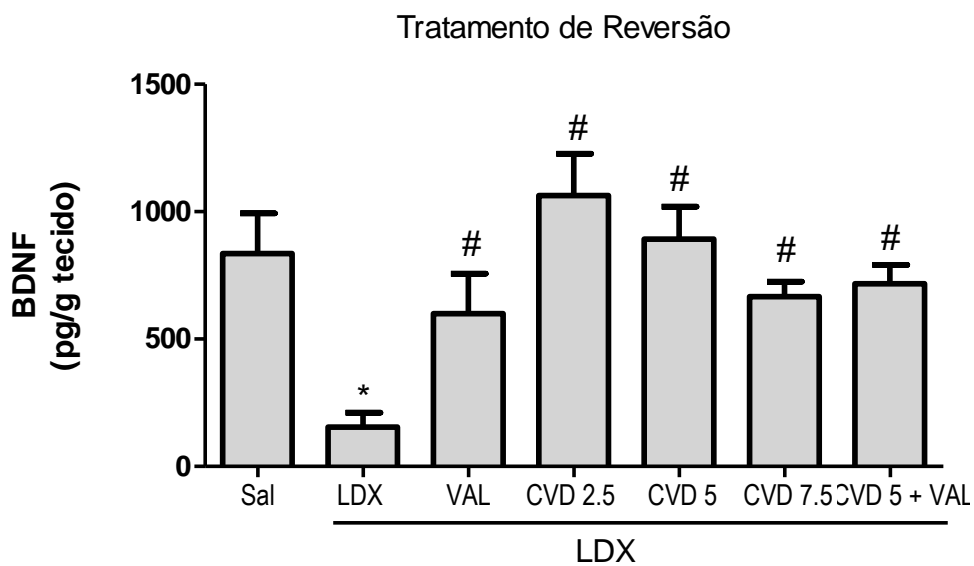
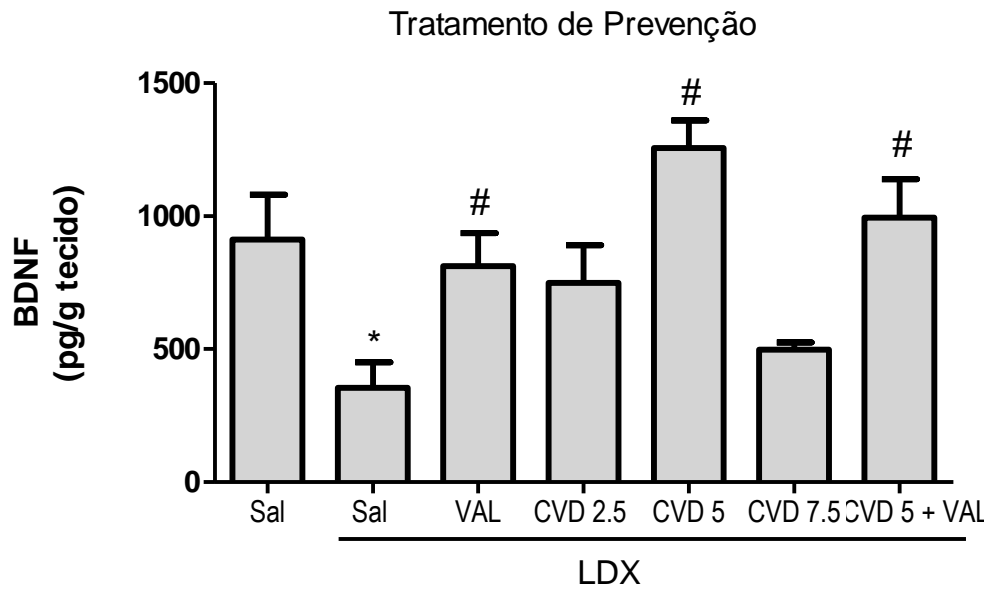
**Figura 15 – Níveis de peroxidação lipídica (TBARS) no córtex pré-frontal (Prefrontal) e corpo estriado (ST) dos animais submetidos aos protocolos de Prevenção e Reversão.** As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média dos níveis de MDA (malondialdeído) (Sal = Salina; CVD = carvedilol; LDX = lisdexamfetamina; VAL = valproato). \* $p < 0,05$  versus grupo Controle; # $p < 0,05$  versus grupo LDX + Sal ou LDX+LDX de acordo com ANOVA, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.

#### *4.5 A administração de CVD é capaz de prevenir e reverter as alterações nos níveis da neurotrofina BDNF induzidas por LDX no hipocampo de ratos*

A modulação dos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é sugerida como sendo um dos principais mecanismos envolvidos na fisiopatologia do TAB.

Os testes bioquímicos realizados na estrutura cerebral do hipocampo para avaliar os níveis de neurotrofinas realizados no grupo do protocolo de prevenção revelaram uma redução significativa dos níveis de BDNF no grupo LDX 10 mg/kg ( $354,1 \pm 97,1$ ) em relação ao grupo controle ( $911,6 \pm 169,4$ ). Os grupos pré-tratados com as doses de CVD 2,5 mg/kg ( $749,3 \pm 141,7$ ), CVD 5mg/kg ( $1257 \pm 104,3$ ), CVD 5mg/kg+VAL100mg/kg ( $994,2 \pm 144,6$ ) e VAL 200mg/kg ( $812,0 \pm 124,4$ ) apresentaram uma prevenção na alteração dos níveis de BDNF induzida por LDX. Apenas o grupo pré-tratado com CVD 7,5 mg/kg ( $498,4 \pm 27,5$ ) não apresentou diferença significativa em relação ao grupo LDX.

No protocolo de reversão ocorreu uma redução significativa dos níveis de BDNF no grupo LDX 10mg/kg ( $154,3 \pm 56,5$ ) em relação ao grupo controle ( $835,8 \pm 157,7$ ). O pós-tratamento com as doses de CVD 2,5 mg/kg ( $1063 \pm 164,1$ ), CVD 5mg/kg ( $892,4 \pm 126,9$ ), CVD 7,5 mg/kg ( $667,3 \pm 58,5$ ), CVD 5mg/kg+VAL100mg/kg ( $717,2 \pm 73,9$ ) e VAL 200mg/kg ( $599,1 \pm 157,5$ ) foi capaz de reverter esta alteração.



**Figura 16 - Níveis de BDNF no hipocampo de animais submetidos aos protocolos de Prevenção e Reversão.** As barras representam a média  $\pm$  erro padrão da média dos níveis de BDNF (Sal = Salina; CVD = carvedilol; LDX = lisdexamfetamina; VAL = valproato). \* $p < 0,05$  versus grupo Controle; # $p < 0,05$  versus grupo LDX + Sal ou LDX+LDX de acordo com ANOVA, seguida pelo teste post-hoc Student-Newman-Keuls.



## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo mostra de maneira inédita o possível efeito antimaniaco do CVD tanto sozinho como associado ao valproato no modelo de mania induzido por LDX. Esta afirmativa tem como base as alterações comportamentais (correção da hiperlocomoção e interação social) e neuroquímicas (ajuste dos parâmetros de avaliação do estresse oxidativo, como GSH e TBARS, bem como níveis de BDNF) obtidas pelo uso destas drogas nos protocolos de prevenção e reversão. Portanto, estes resultados apontam para a possibilidade de um importante benefício do CVD para o tratamento da mania.

O TAB é um transtorno psiquiátrico multifatorial caracterizado por episódios cíclicos e recorrentes de mania e depressão bem como pelo desenvolvimento de alterações neurofisiológicas progressivas (GEOFFROY *et al.*, 2013). Evidências neurobiológicas indicam um aumento do estresse oxidativo estando associado, particularmente, aos episódios agudos de mania (KAPCZINSKI *et al.*, 2008).

O CVD foi escolhido para o presente estudo com base em suas propriedades como estabilizador de mitocôndria, antioxidante e neuroprotetor em modelos animais de neurotoxicidade (KUMAR *et al.*, 2011). Alia-se a estas o fato desta droga estar entre as mais prescritas para o tratamento da hipertensão e insuficiência cardíaca, comorbidades clínicas que frequentemente ocorrem em pacientes com TAB. Os metabólitos do CVD também possuem potente ação antioxidante resultando em uma redução do estresse oxidativo e beneficiando uma melhora clínica do episódio agudo de mania no TAB (YUE *et al.*, 1992).

A hiperlocomoção, aumento da atividade exploratória e balanço pró-oxidativo em regiões cerebrais como o córtex pré-frontal e corpo estriado são alterações que se apresentam em modelos animais de mania (FREY *et al.*, 2006; FREY *et al.*, 2006; ANDREAZZA *et al.*, 2008). Nesse contexto a administração de CVD preveniu e reverteu significativamente as alterações comportamentais induzidas por LDX apresentando resultados semelhantes aos grupos tratados com estabilizante do humor (VAL) e salina, reafirmando o potencial do CVD indicando-o como uma ferramenta farmacológica promissora nos episódios de mania.

Os resultados do teste de interação social que encontramos no presente estudo demonstraram um aumento significativo do interesse por contato com animais, caracterizando-se uma maior disponibilidade a interação social por esses animais, sugerindo que o estado de mania levaria a uma maior necessidade de contatos sociais. O mesmo

comportamento não foi observado nos animais que foram tratados com CVD, VAL e salina. Nos animais submetidos ao modelo e tratados com CVD e/ou VAL durante o tempo de teste esses manifestaram um equilíbrio entre uma exploração do ambiente sem interação social da caixa teste com o ambiente social, ou seja, com o animal desconhecido. Portanto, este dado sugere um comportamento social aumentado de forma anormal durante o estado maníaco, podendo ser seriamente prejudicial para os contatos sociais do indivíduo.

Nesse contexto social, se sabe que pacientes em crise de mania têm a necessidade de ampliar seus contatos sociais, sendo o aumento da sociabilidade um dos sintomas do quadro maníaco (KENNEDY *et al.*, 2005). Apesar da ampliação da sociabilidade na mania, em um contexto geral, os pacientes com TAB apresentam taxas de fracassos nas uniões matrimoniais e também grandes problemas nas relações sociais em geral. Isto se deve ao fato desses pacientes, ao longo do transtorno, apresentarem com índices de redes sociais tão baixo quanto os pacientes depressivos, possivelmente não pelo mesma razão da interação social observando que o paciente depressivo possui um estado de humor rebaixado e o paciente bipolar apresenta estados mistos de humor (ROMANS & MCPHERSON, 1992).

A incapacidade psicossocial oscila simultaneamente com as mudanças na gravidade dos sintomas afetivos de paciente bipolares. Baseado no DSM-IV, sintomas suaves de hipomania poderiam melhorar a função psicossocial em pacientes com TAB (JUDD *et al.*, 2005). Em um estudo que avaliou a incapacidade psicossocial e a função de trabalho de pacientes com transtornos afetivos foi concluído que estes paciente apresentam algum grau de incapacidade social na maior parte do tempo que foram acompanhados pela pesquisa (54 a 59% meses), incluindo 19 a 23% de meses de incapacidade moderada e de 7 a 9% de meses com deficiência global grave (JUDD *et al.*, 2008).

Pessoas com transtornos do humor apresentam deficiências cognitivas que são preditivos de incapacidade funcional (BOWIE *et al.*, 2013). Os déficits cognitivos parecem ser pior durante períodos com sintomas de humor mais agudos em pacientes com transtornos do humor, sugerindo que esses pacientes teriam uma perda do senso crítico das atitudes sociais, o que acarretaria em prejuízos ao convívio social (HARVEY, 2011).

Há um crescente número de estudos epidemiológicos revelando que o TAB ocorre ao mesmo tempo com transtornos de ansiedade (FREEMAN *et al.*, 2002). Estados emocionais podem assumir a função de geradores de estados tensionais, como exemplo, os transtornos de ansiedade, o qual pode ser uma fonte poderosa de estresse (LIPP, 2001). Diferentes

substâncias têm sido estudadas visando a compreender a neurofisiologia que envolve a ansiedade e o estresse. Com relação à dopamina, o estresse aumenta a liberação e o metabolismo de Dopamina (DA) no córtex pré-frontal, área envolvida na produção de respostas ao estresse. O envolvimento da dopamina com estados de hipervigilância já está bem estabelecido (MARGIS *et al.*, 2003). Já é bem relatada a forte associação entre os transtornos psiquiátricos, em especial TAB, e os distúrbios do sono e dos ritmos circadianos com estresse oxidativo (REMESAR-LOPEZ & RIBEIRO, 2001).

A interação ambiente e substrato neural é explicada na teoria *zeitgeber* sociais. De acordo com a teoria, o estresse da vida leva a episódios de humor, causando interrupções nas rotinas sociais dos indivíduos e, por sua vez, os seus ritmos circadianos biológicos (GRANDIN *et al.*, 2006). O ritmo social não é um ritmo biológico, mas interfere na sincronização de ritmos biológicos e caracteriza-se pela regularidade da vida diária determinada pelas relações sociais (SCHIMITT *et al.*, 2010). A teoria *zeitgeber* social foi estudada em pacientes bipolares e os resultados sugeriram que eventos da vida, particularmente interrupção nos ritmos sociais, antecipam sintomas e episódios depressivos ou maníacos, o que sugere que os sintomas afetivos são causados por eventos de vida que perturbam o ritmo social e circadiano de indivíduos vulneráveis (SYLVIA *et al.*, 2009).

Nesse contexto devemos chamar atenção para o fato da capacidade das drogas utilizadas no presente estudo em prevenir e reverter a sociabilidade excessiva apresentada pelos animais submetidos ao modelo de mania, o que pode ser um fator de grande importância para a estabilização do transtorno baseado nas afirmativas anteriores de que perturbações no ritmo social tornam os indivíduos mais vulneráveis.

Vale destacar que os tratamentos aqui propostos foram capazes de prevenir/reverter alterações comportamentais e neuroquímicas. Neste último caso os resultados neuroquímicos demonstraram a redução do estresse oxidativo através dos testes de glutathiona peroxidase (GSH) e ácido tiobarbitúrico (TBARS) e na preservação de neurotrofinas (BDNF) no sistema nervoso central como resultado do tratamento com CVD no modelo de mania aguda nos animais.

As desordens no sistema de defesas antioxidantes têm sido frequentemente mencionadas pela literatura médica como parte da fisiopatologia de muitas doenças psiquiátricas e é considerada como uma das vias que participam do modelo teórico de neuroprogressão do TAB (BERK *et al.*, 2011).

Dados de uma pesquisa com paciente com esquizofrenia e TAB revelaram diferenças significativas entre os produtos de peroxidação lipídica e enzimas antioxidantes (GSH) entre os pacientes reforçando a ligação do estresse oxidativo com as doenças psiquiátricas (KULOGLU *et al.*, 2002)

O estresse oxidativo ocorre em uma variedade de doenças e está fortemente ligada ao aumento da morte e disfunção neuronal. Todas as células do cérebro possuem vários mecanismos de defesa para manter a homeostasia em resposta a estressores oxidativos, ao que chamamos de balanço oxidativo. Quando há um desequilíbrio nessa homeostasia então ocorre o estresse oxidativo determinado por aumento na produção de radicais livres em contrapartida a uma diminuição na taxa pelos quais estes são eliminados (DASURI *et al.*, 2012).

A GSH é uma enzima de defesa antioxidante desempenhando um importante papel preventivo contra os danos causados pela os radicais livres nas células. A GSH é dependente de selênio tendo um papel importante na desintoxicação do estresse oxidativo relacionado às espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (RNS) (CUMURCU *et al.*, 2013).

Os resultados mostraram que o uso de CVD foi capaz de prevenir/reverter as alterações nos níveis de GSH nas áreas cerebrais estudadas mantendo estes níveis semelhantes aos dos animais que foram submetidos ao estabilizante do humor valproato.

A capacidade dos estabilizadores do humor causarem neuroproteção tem implicações terapêuticas para uma vasta gama de doenças do SNC e um dos mecanismos que contribuem para ações neuroprotetoras está na modulação da via de estresse oxidativo (CHIU *et al.*, 2013). Estudos recentes indicam que o lítio e valproato exercem efeitos neuroprotetores contra o estresse oxidativo, sendo este possivelmente, um dos mecanismos farmacológicos do tratamento com estabilizantes do humor no TAB (FREY *et al.*, 2006). Outro estudo avaliou alterações comportamentais e neuroquímicas em modelo animais de mania induzido por LDX demonstrando uma diminuição dos níveis de GSH em áreas cerebrais como o cortex pré-frontal e corpo estriado (áreas também avaliadas neste estudo), revelando que o lítio tem a capacidade de reverter a redução de GSH induzida por LDX confirmando sua capacidade antioxidante (MACEDO *et al.*, 2013).

Portanto, nossos achados corroboram a atividade antioxidante e neuroprotetora do CVD de forma semelhante a das drogas já estabelecidas na clínica para o tratamento do TAB, como o valproato, dando consistência a um grande corpo de evidência ligando o estresse

oxidativo à etiologia do TAB e indicando que fármacos com atividade antioxidante beneficiariam o tratamento de pacientes com TAB.

No contexto da neuroproteção o CVD promoveu reversão/prevenção nas alterações nos níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) causadas pela administração da LDX. O CVD da mesma forma que foi visto em relação ao balanço oxidativo conseguiu modificar as alterações em BDNF de forma semelhante ao VAL levando os níveis próximos aos dos animais controle.

O BDNF desempenha um papel central na plasticidade sináptica, neurogênese, conectividade neuronal e arborização dendrítica no SNC (KUIPERS & BRAMHAM, 2006; MARTINOWICH *et al.*, 2007). Evidências sugerem que níveis reduzidos de BDNF têm um papel relevante na fisiopatologia do TAB. Achados neuropatológicos sugerem que as mudanças na plasticidade neuronal, particularmente na capacidade de resiliência celular e conectividade, são uma das principais alterações encontradas no TAB. Além disso, os estressores da vida cotidiana podem influenciar negativamente o curso da doença, tanto quanto a própria variação do humor inerente à doença, estes eventos têm sido mostrados estar associados à redução dos níveis séricos de BDNF entre pacientes bipolares (KAPCZINSKI *et al.*, 2008).

Um estudo de meta-análise que reuniu 13 estudos num total de 1113 indivíduos avaliou os níveis de BDNF durante as fases de ciclagem do TAB concluindo que os níveis de BDNF no cérebro reduzem durante os episódios agudos de mania e de depressão, sendo normalizados na fase eufímica (FERNANDES *et al.*, 2011). Em outro estudo de meta-análise os resultados encontrados corroboram outros estudos, onde os níveis de BDNF no sangue de paciente com TAB e controles saudáveis, nos quais os pacientes bipolares foram avaliados com base em diferente estado afetivo (maníaco, depressivo ou estado eutímico), concluindo que, no geral, pacientes com TAB tinham menores concentrações de BDNF quando comparados com os controles saudáveis sendo que os níveis são anormalmente reduzidos em estados maníacos e depressivos. Além disso, foi observado que pacientes em estado maníaco, após o tratamento farmacológico com estabilizadores do humor, tiveram o nível de BDNF significativamente aumentado (LIN, 2009). Esses dados reforçam a hipótese do BDNF como um biomarcador importante na neuroprogressão do TAB.

Os estabilizadores de humor, tais como lítio e valproato, são conhecidos por aumentar os níveis de BDNF. Estudos pré-clínicos demonstraram a atividade antioxidante *in*

*vitro* destes fármacos (SHAO *et al.*, 2005). Em estudo *in vivo*, o lítio e valproato, foram capazes de reduzir o estresse oxidativo tanto no modelo animal de prevenção quanto de reversão induzido por anfetamina impedindo a formação de ácido tiobarbitúrico (TBARS), fortalecendo a hipótese de que o estresse oxidativo está relacionado com a fisiopatologia do TAB (FREY *et al.*, 2006).

As espécies reativas de oxigênio (ERO), principalmente provenientes da respiração mitocondrial, são indutores críticos de dano oxidativo e implicadas na disfunção dos tecidos (TRINEI *et al.*, 2013). O cérebro metaboliza 20% do total do oxigênio corporal e é particularmente vulnerável a produção de ERO, pois tem uma capacidade antioxidante limitada (FLOYD, 1999).

Durante os episódios de humor ocorrem alterações no estado redox, aumento de citocinas inflamatórias e redução na atividade neurotrófica que influenciam a função normal de neurônios e da glia. Altos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) dentro da mitocôndria aumentam a liberação de  $Ca^{2+}$  pelo retículo endoplasmático aumentando o estresse oxidativo. Essas alterações podem levar à disfunção mitocondrial já relatada por achados que demonstram alterações na cadeia transportadora de elétrons induzidas por perturbações do sono, exposição ao estresse e ativação de vias dopaminérgicas (KAPCZINSKI *et al.*, 2011). Neste contexto o CVD por suas capacidades como estabilizador de mitocôndria foi capaz de reverter/prevenir os processos pró-oxidativos induzidos pela LDX no modelo de mania.

O malonaldeído (MDA) é um aldeído de cadeia curta, sendo um dos compostos medidos pela reação com o TBARS (FERREIRA & MATSUBARA, 1997). A peroxidação de ácidos graxos insaturados nas membranas lipídicas é um processo conhecido como peroxidação lipídica e o malonaldeído é um indicador deste processo. A formação de malonaldeído ocorre pela decomposição dos hidroperóxidos lipídicos e sua concentração tem sido utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica em sistemas biológicos, levando a formação de produtos citotóxicos e a morte celular em células e tecidos (BONNES-TAOUREL *et al.*, 1992).

Em um estudo realizado em pacientes com diagnóstico TAB e esquizofrenia comparados com um grupo controle saudável foi avaliado o nível de estresse oxidativo, dentre os testes, na determinação dos níveis de MDA no plasma foi verificado um aumento

significativo nos níveis de MDA no grupo com TAB em relação o grupo controle (KULOGLU *et al.*, 2002).

Os dados da literatura confirmam os resultados do presente estudo onde os níveis de MDA aumentaram significativamente nos grupos submetidos ao modelo de mania por LDX. Além disso, estes achados apontam para a redução dos níveis de MDA nos grupos onde foram administrados o CVD e VAL. Um estudo de meta-análise buscou na literatura biomarcadores de estresse oxidativo relacionados com TAB. O estudo concluiu que marcadores de estresse oxidativo em células de sangue ou soro estão aumentados no TAB, especificamente, os resultados indicaram que pacientes com TAB apresentam um aumento na peroxidação lipídica associada ao TBARS (ANDREAZZA *et al.*, 2008).

Um resultado que merece ser destacado no presente estudo diz respeito à associação entre CVD 5 mg/kg e Val 100 mg/kg. A decisão em reduzir pela metade a dose do VAL neste grupo de animais surgiu das evidências de que o CVD é capaz de potencializar as ações do VAL possivelmente por uma interação farmacodinâmica (GOEL & GOEL, 2013) o que é evidenciado principalmente em relação ao seu efeito anticonvulsivante. Nós mostramos que a droga anti-hipertensiva CVD em associação com uma das drogas anticonvulsivantes mais prescritas pode ser muito importante para o tratamento do TAB, visto que estes pacientes apresentam risco dobrado de apresentarem doenças cardiovasculares em comparação com a população em geral.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados comportamentais e neuroquímicos da presente pesquisa evidenciaram um potencial neuroprotetor do CVD no modelo animal de mania induzido por dimesilato de lisdexanfetamina (LDX) e capaz de reduzir os sintomas de mania no modelo animal. Possivelmente, a ação neuroprotetora deste fármaco, um beta-bloqueador não seletivo, esteja atribuída à sua atividade antioxidante, o que atuaria na proteção de todo o organismo.

A associação do CVD e de um estabilizante do humor (valproato) combinados em doses reduzidas demonstrou resultados positivos no tratamento dos sintomas no modelo animal de mania. Mostrando assim, uma possível estratégia de tratamento no futuro do TAB. É preciso mais estudos que explorem a viabilidade dessa associação de forma segura nos pacientes, presumindo que estes pacientes são mais vulneráveis ao aparecimento de doenças cardiovasculares, essa estratégia também seria preventiva, além de terapêutica.



## 7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Existem muitos desafios e um longo caminho a ser percorrido no campo da pesquisa científica a cerca das causas, biológicas e/ou ambientais, que determinam o desencadeamento dos transtornos psiquiátricos e como a fisiopatologia das doenças interage com ambiente que o individuo é exposto. O TAB tornou-se alvo de médicos e pesquisadores nas últimas décadas devido ao “crescimento” no número de casos, a dificuldade de diagnóstico e tratamento adequado, devido ser uma doença que apresenta sintomas mistos, de mania e depressão, tornando o tratamento farmacológico difícil e de segurança questionável.

A descoberta de um fármaco que atuaria de forma preventiva aos quadros de mania e depressão, e mesmo operar de forma coadjuvante aos tratamentos já estabelecidos na clínica psiquiátrica, seria um agente promissor no tratamento do TAB. O uso de um medicamento neste perfil a curto, médio e a longo prazo por esses pacientes, daria uma melhora relevante na qualidade de vida, visto que o estresse oxidativo e neurodegeneração é mais intensa durante episódios agudos, obedecendo “teoria da neuroprogressão” postulada por Kapczinski e conseqüentemente reduziria comorbidades e os prejuízos sociais durante o curso da doença.

Portanto, concluímos que o CVD demonstra um promissor potencial terapêutico no tratamento de transtornos psiquiátricos devido a sua capacidade antioxidante sistêmica, mas particularmente no sistema nervoso central, visto que o estresse oxidativo é um das vias que participam dos mecanismos fisiopatológicos de muitas doenças psiquiátricas, em especial o TAB, podendo o CVD ser alvo de mais pesquisas que esclareçam todo seu espectro de atuação, bem como de estudos clínicos.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th ed. Washington, D.C.: American Psychiatric Association; 1994.

ALFIERI, A. B. et al. Differential long-term effects of carvedilol on proinflammatory and antiinflammatory cytokines, asymmetric dimethylarginine, and left ventricular function in patients with heart failure. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 52, n. 1, p. 49-54, 2008. ISSN 1533-4023 (Electronic)

0160-2446 (Linking).

ANDREATINI, R. A importância dos modelos animais em psiquiatria. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 24, n. 4, p. 164-164, 2002. ISSN 1516-4446.

ANDREAZZA, A. C. et al. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. **J Psychiatr Res**, v. 41, n. 6, p. 523-9, 2007. ISSN 0022-3956 (Print)

0022-3956 (Linking).

ANDREAZZA, A. C. et al. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. **J Affect Disord**, v. 111, n. 2-3, p. 135-44, 2008. ISSN 0165-0327 (Print)

0165-0327 (Linking).

ANGLIN, R. E. et al. The mitochondrial genome and psychiatric illness. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, v. 7, p. 749-59, 2012. ISSN 1552-485X (Electronic)

1552-4841 (Linking).

ANGST, J.; MARNEROS, A. Bipolarity from ancient to modern times: conception, birth and rebirth. **J Affect Disord**, v. 67, n. 1-3, p. 3-19, 2001. ISSN 0165-0327 (Print)

0165-0327 (Linking).

AROZAL, W. et al. Protective effect of carvedilol on daunorubicin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. **Toxicology**, v. 274, n. 1-3, p. 18-26, Jul-Aug 2010. ISSN 1879-3185 (Electronic)

0300-483X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20452391> >.

ATMACA, M. et al. Hippocampal 1H MRS in patients with bipolar disorder taking valproate versus valproate plus quetiapine. **Psychol Med**, v. 37, n. 1, p. 121-9, Jan 2007. ISSN 0033-2917 (Print)

0033-2917 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17094813> >.

BARNETT, J. H.; SMOLLER, J. W. The genetics of bipolar disorder. **Neuroscience**, v. 164, n. 1, p. 331-43, 2009. ISSN 1873-7544 (Electronic)

0306-4522 (Linking).

BERK, M. et al. Dopamine increases platelet intracellular calcium in bipolar affective disorder and controls. **Int Clin Psychopharmacol**, v. 9, n. 4, p. 291-3, 1994. ISSN 0268-1315 (Print)

0268-1315 (Linking).

BERK, M. et al. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 35, n. 3, p. 804-17, 2011. ISSN 1873-7528 (Electronic)

0149-7634 (Linking).

BERK, M.; PLEIN, H.; BELSHAM, B. The specificity of platelet glutamate receptor supersensitivity in psychotic disorders. **Life Sci**, v. 66, n. 25, p. 2427-32, 2000. ISSN 0024-3205 (Print)

0024-3205 (Linking).

BERTOLINO, A. et al. Neuronal pathology in the hippocampal area of patients with bipolar disorder: a study with proton magnetic resonance spectroscopic imaging. **Biol Psychiatry**, v. 53, n. 10, p. 906-13, May 15 2003. ISSN 0006-3223 (Print)

0006-3223 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12742678> >.

BONNES-TAOUREL, D.; GUERIN, M. C.; TORREILLES, J. Is malonaldehyde a valuable indicator of lipid peroxidation? **Biochem Pharmacol**, v. 44, n. 5, p. 985-8, 1992. ISSN 0006-2952 (Print)

0006-2952 (Linking).

BOWIE, C. R.; GUPTA, M.; HOLSHAUSEN, K. Cognitive remediation therapy for mood disorders: rationale, early evidence, and future directions. **Can J Psychiatry**, v. 58, n. 6, p. 319-25, 2013. ISSN 0706-7437 (Print)

0706-7437 (Linking).

BRESSAN, R. A.; BIGLIANI, V.; PILOWSKY, L. S. Neuroimagem de receptores D2 de dopamina na esquizofrenia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 23, p. 46-49, 2001. ISSN 1516-4446. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-44462001000500014&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462001000500014&nrm=iso) >.

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 Psiq Clín**, v. 37, n. 4, p. 162-6, 2010.

CHIARONI, P. et al. [Hyperthymic and depressive temperaments study in controls, as a function of their familial loading for mood disorders]. **Encephale**, v. 30, n. 6, p. 509-15, 2004. ISSN 0013-7006 (Print)

0013-7006 (Linking).

CHIU, C. T. et al. Therapeutic potential of mood stabilizers lithium and valproic acid: beyond bipolar disorder. **Pharmacol Rev**, v. 65, n. 1, p. 105-42, 2013. ISSN 1521-0081 (Electronic)

0031-6997 (Linking).

CHIZZOLA, P. R. et al. Efeitos do carvedilol na insuficiência cardíaca por cardiomiopatia dilatada. Resultado do estudo duplo-cego, randômico, com grupo placebo-controle (Estudo CARIBE). **Arq Bras Cardiol**, v. 74, n. 3, p. 233-237, 2000.

COSTA, A. M. N. Transtorno afetivo bipolar: carga da doença e custos relacionados. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 35, n. 3, p. 104-110, 2008.

CRADDOCK, N.; O'DONOVAN, M. C.; OWEN, M. J. The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis. **J Med Genet**, v. 42, n. 3, p. 193-204, 2005. ISSN 1468-6244 (Electronic)

0022-2593 (Linking).

CRADDOCK, N.; SKLAR, P. Genetics of bipolar disorder. **Lancet**, v. 381, n. 9878, p. 1654-62, 2013. ISSN 1474-547X (Electronic)

0140-6736 (Linking).

CUMURCU, B. E. et al. Analysis of manganese superoxide dismutase (MnSOD: Ala-9Val) and glutathione peroxidase (GSH-Px: Pro 197 Leu) gene polymorphisms in mood disorders. **Bosn J Basic Med Sci**, v. 13, n. 2, p. 109-13, 2013. ISSN 1840-4812 (Electronic)

1512-8601 (Linking).

CUNHA, A. B. et al. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. **Neurosci Lett**, v. 398, n. 3, p. 215-9, 2006. ISSN 0304-3940 (Print)

0304-3940 (Linking).

CUNHA, A. B. M. D. **MARCADORES BIOLÓGICOS NOS EPISÓDIOS AGUDOS DO TRANSTORNO DO HUMOR BIPOLAR**. 2008. 102 (Doutorado). PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PSIQUIATRIA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, RIO GRANDE DO SUL.

DASURI, K.; ZHANG, L.; KELLER, J. N. Oxidative stress, neurodegeneration, and the balance of protein degradation and protein synthesis. **Free Radic Biol Med**, v. 19, n. 12, p. 01141-0, 2012. ISSN 1873-4596 (Electronic)

0891-5849 (Linking).

DE OLIVEIRA, G. S. et al. Decreased brain-derived neurotrophic factor in medicated and drug-free bipolar patients. **J Psychiatr Res**, v. 43, n. 14, p. 1171-4, 2009. ISSN 1879-1379 (Electronic)

0022-3956 (Linking).

DEICKEN, R. F. et al. Lower concentration of hippocampal N-acetylaspartate in familial bipolar I disorder. **Am J Psychiatry**, v. 160, n. 5, p. 873-82, May 2003. ISSN 0002-953X (Print)

0002-953X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12727690> >.

DINICOLANTONIO, J. J. et al. Meta-analysis of carvedilol versus Beta 1 selective Beta-blockers (atenolol, bisoprolol, metoprolol, and nebivolol). **Am J Cardiol**, v. 111, n. 5, p. 765-9, Mar 1 2013. ISSN 1879-1913 (Electronic)

0002-9149 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23290925> >.

DOS SANTOS, É. G.; DE SIQUEIRA, M. M. Prevalência dos transtornos mentais na população adulta brasileira: uma revisão sistemática de 1997 a 2009. **J Bras Psiquiatr**, v. 59, n. 3, p. 238-246, 2010.

EL-MALLAKH, R. S. et al. Intracerebroventricular administration of ouabain as a model of mania in rats. **Bipolar Disord**, v. 5, n. 5, p. 362-5, 2003. ISSN 1398-5647 (Print)

1398-5647 (Linking).

FEIER, G. et al. Lithium and valproate modulate energy metabolism in an animal model of mania induced by methamphetamine. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 103, n. 3, p. 589-96, Jan 2013. ISSN 1873-5177 (Electronic)

0091-3057 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23010382> >.

FERNANDES, B. S. et al. 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. ISSN 1879-1379 (Electronic)

0022-3956 (Linking).

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997. ISSN 0104-4230. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-42301997000100014&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42301997000100014&nrm=iso) >.

FIORINO, D. F.; PHILLIPS, A. G. Facilitation of sexual behavior and enhanced dopamine efflux in the nucleus accumbens of male rats after D-amphetamine-induced behavioral sensitization. **J Neurosci**, v. 19, n. 1, p. 456-63, 1999. ISSN 0270-6474 (Print)

0270-6474 (Linking).

FLOYD, R. A. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 222, n. 3, p. 236-45, 1999. ISSN 0037-9727 (Print)

0037-9727 (Linking).

FREEMAN, M. P.; FREEMAN, S. A.; MCELROY, S. L. The comorbidity of bipolar and anxiety disorders: prevalence, psychobiology, and treatment issues. **J Affect Disord**, v. 68, n. 1, p. 1-23, 2002. ISSN 0165-0327 (Print)

0165-0327 (Linking).

FREY, B. N. et al. 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. 321-32, 2013. ISSN 1440-1614 (Electronic)

0004-8674 (Linking).

FREY, B. N. et al. [Neuropathological and neurochemical abnormalities in bipolar disorder]. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 26, n. 3, p. 180-8, Sep 2004. ISSN 1516-4446 (Print)

1516-4446 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15645064> >.

FREY, B. N. et al. Increased oxidative stress after repeated amphetamine exposure: possible relevance as a model of mania. **Bipolar Disord**, v. 8, n. 3, p. 275-80, 2006. ISSN 1398-5647 (Print)

1398-5647 (Linking).

FREY, B. N. et al. 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. 326-32, 2006. ISSN 1180-4882 (Print)

1180-4882 (Linking).

GAMA, C. S. et al. Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 35, n. 1, p. 70-4, 2013. ISSN 1809-452X (Electronic)

1516-4446 (Linking).

GEOFFROY, P. A. et al. Reconsideration of bipolar disorder as a developmental disorder: Importance of the time of onset. **J Physiol Paris**, 2013.

GOEL, R.; GOEL, A. Interactions between carvedilol and sodium valproate along with neurobehavioural co-morbidities in various epilepsy models. **Drug Invention Today**, v. 5, n. 2, p. 87-91, 2013. ISSN 0975-7619. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S097576191300029X> >.

GOLDSTEIN, B. I. et al. Inflammation and the phenomenology, pathophysiology, comorbidity, and treatment of bipolar disorder: a systematic review of the literature. **J Clin Psychiatry**, v. 70, n. 8, p. 1078-90, 2009. ISSN 1555-2101 (Electronic)

0160-6689 (Linking).

GOODWIN, F. K.; JAMISON, K. R. **Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression**. Oxford University Press, USA, 2007. ISBN 9780195135794. Disponível em: < <http://books.google.com.br/books?id=hOHWEtEKEO4C> >.

GRANDE, I. et al. The role of BDNF as a mediator of neuroplasticity in bipolar disorder. **Psychiatry Investig**, v. 7, n. 4, p. 243-50, 2010. ISSN 1976-3026 (Electronic)

1738-3684 (Linking).

GRANDIN, L. D.; ALLOY, L. B.; ABRAMSON, L. Y. The social zeitgeber theory, circadian rhythms, and mood disorders: review and evaluation. **Clin Psychol Rev**, v. 26, n. 6, p. 679-94, 2006. ISSN 0272-7358 (Print)

0272-7358 (Linking).

HAMDANI, N.; TAMOUZA, R.; LEBOYER, M. Immuno- inflammatory markers of bipolar disorder: a review of evidence. **Front Biosci**, v. 4, p. 2170-82, 2012. ISSN 1945-0508 (Electronic)

1945-0494 (Linking).

HARVEY, P. D. Mood symptoms, cognition, and everyday functioning: in major depression, bipolar disorder, and schizophrenia. **Innov Clin Neurosci**, v. 8, n. 10, p. 14-8, 2011. ISSN 2158-8341 (Electronic).

HENRY, C. et al. Affective lability and affect intensity as core dimensions of bipolar disorders during euthymic period. **Psychiatry Res**, v. 159, n. 1-2, p. 1-6, 2008. ISSN 0165-1781 (Print)

0165-1781 (Linking).

JUDD, L. L. et al. Psychosocial disability in the course of bipolar I and II disorders: a prospective, comparative, longitudinal study. **Arch Gen Psychiatry**, v. 62, n. 12, p. 1322-30, 2005. ISSN 0003-990X (Print)

0003-990X (Linking).

JUDD, L. L. et al. Psychosocial disability and work role function compared across the long-term course of bipolar I, bipolar II and unipolar major depressive disorders. **J Affect Disord**, v. 108, n. 1-2, p. 49-58, 2008. ISSN 0165-0327 (Print)

0165-0327 (Linking).

KAPCZINSKI, F. et al. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. **J Psychiatr Res**, v. 45, n. 2, p. 156-61, 2011. ISSN 1879-1379 (Electronic)

0022-3956 (Linking).

KAPCZINSKI, F. et al. Increased oxidative stress as a mechanism for decreased BDNF levels in acute manic episodes. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 30, n. 3, p. 243-5, 2008. ISSN 1516-4446 (Print)

1516-4446 (Linking).



KAPCZINSKI, F. et al. Brain-derived neurotrophic factor and neuroplasticity in bipolar disorder. **Expert Rev Neurother**, v. 8, n. 7, p. 1101-13, 2008. ISSN 1744-8360 (Electronic) 1473-7175 (Linking).

KAPCZINSKI, F. et al. Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 32, n. 4, p. 675-92, 2008. ISSN 0149-7634 (Print) 0149-7634 (Linking).

KAPCZINSKI., F.; QUEVEDO., J.; COL., A. **Transtorno Bipolar: Teoria e clínica**. 1. Porto Alegre: 2009. 392 ISBN 978-85-363-1624-6.

KENNEDY, N. et al. Incidence and distribution of first-episode mania by age: results from a 35-year study. **Psychological medicine**, v. 35, n. 6, p. 855-864, 2005. ISSN 0033-2917.

KHAIROVA, R. et al. Effects of lithium on oxidative stress parameters in healthy subjects. **Mol Med Rep**, v. 5, n. 3, p. 680-2, 2012. ISSN 1791-3004 (Electronic) 1791-2997 (Linking).

KINROS, J.; REICHENBERG, A.; FRANGOU, S. The neurodevelopmental theory of schizophrenia: evidence from studies of early onset cases. **Isr J Psychiatry Relat Sci**, v. 47, n. 2, p. 110-7, 2010. ISSN 0333-7308 (Print) 0333-7308 (Linking).

KOWALSKI, J. et al. Carvedilol modifies antioxidant status of patients with stable angina. **Cell Mol Biol Lett**, v. 13, n. 2, p. 230-9, 2008. ISSN 1689-1392 (Electronic) 1425-8153 (Linking).

KRAEPELIN, E. **Manic-depressive insanity and paranoia**. E. & S. Livingstone, 1921. Disponível em: < <http://books.google.com.br/books?id=DuVMBi9ycfEC> >.

KUIPERS, S. D.; BRAMHAM, C. R. Brain-derived neurotrophic factor mechanisms and function in adult synaptic plasticity: new insights and implications for therapy. **Curr Opin Drug Discov Devel**, v. 9, n. 5, p. 580-6, 2006. ISSN 1367-6733 (Print) 1367-6733 (Linking).

KULOGLU, M. et al. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. **Cell Biochem Funct**, v. 20, n. 2, p. 171-5, 2002. ISSN 0263-6484 (Print)

0263-6484 (Linking).

KUMAR., A.; PRAKASH., A.; DOGRA., S. Neuroprotective effect of carvedilol against aluminium induced toxicity: possible behavioral and biochemical alterations in rats **Pharmacological Reports**, v. 64, 2011.

KUNZ, M. et al. 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. 1677-81, 2008. ISSN 0278-5846 (Print)

0278-5846 (Linking).

KUTI, O. J.; PAGE, D. T. Assessment of Social Approach Behavior in Mice #. In: (Ed.). **T Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice**, v.63, 2011. p.83-95. (Neuromethods).

LAM, D.; WONG, G. Prodromes, coping strategies and psychological interventions in bipolar disorders. **Clin Psychol Rev**, v. 25, n. 8, p. 1028-42, 2005. ISSN 0272-7358 (Print)

0272-7358 (Linking).

LEBOYER, M.; KUPFER, D. J. Bipolar disorder: new perspectives in health care and prevention. **J Clin Psychiatry**, v. 71, n. 12, p. 1689-95, 2010. ISSN 1555-2101 (Electronic)

0160-6689 (Linking).

LIN, P. Y. State-dependent decrease in levels of brain-derived neurotrophic factor in bipolar disorder: a meta-analytic study. **Neurosci Lett**, v. 466, n. 3, p. 139-43, 2009. ISSN 1872-7972 (Electronic)

0304-3940 (Linking).

LIPP, M. E. N. Estresse emocional: a contribuição de estressores internos e externos. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 28, n. 6, p. 347-349, 2001.

LU, R. B. et al. Neuroprotective and neurogenesis agent for treating bipolar II disorder: add-on memantine to mood stabilizer works. **Med Hypotheses**, v. 79, n. 2, p. 280-3, Aug 2012. ISSN 1532-2777 (Electronic)

0306-9877 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22677298> >.

MACEDO, D. S. et al. Effects of lithium on oxidative stress and behavioral alterations induced by lisdexamfetamine dimesylate: relevance as an animal model of mania. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 43, p. 230-7, 2013. ISSN 1878-4216 (Electronic)

0278-5846 (Linking).

MACHADO-VIEIRA, R. et al. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. **Neurosci Lett**, v. 421, n. 1, p. 33-6, 2007. ISSN 0304-3940 (Print)

0304-3940 (Linking).

MACHADO-VIEIRA, R. et al. As bases neurobiológicas do transtorno bipolar. **Rev Psiquiatr Clín**, v. 32, n. 1, p. 28-33, 2005.

MALHI, G. S. et al. Bipolaroids: functional imaging in bipolar disorder. **Acta Psychiatr Scand Suppl**, n. 422, p. 46-54, 2004. ISSN 0065-1591 (Print)

0065-1591 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15330938> >.

MARAZZITI, D. et al. Psychiatric disorders and mitochondrial dysfunctions. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 16, n. 2, p. 270-5, 2012. ISSN 1128-3602 (Print)

1128-3602 (Linking).

MARGIS, R. et al. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 25, n. 1, p. 65-74, 2003.

MARTINOWICH, K.; MANJI, H.; LU, B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. **Nat Neurosci**, v. 10, n. 9, p. 1089-93, 2007. ISSN 1097-6256 (Print)

1097-6256 (Linking).

MILLER, A. H.; MALETIC, V.; RAISON, C. L. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. **Biol Psychiatry**, v. 65, n. 9, p. 732-41, 2009. ISSN 1873-2402 (Electronic)

0006-3223 (Linking).

MITCHELL, P. B. Bipolar disorder: the shift to overdiagnosis. **Can J Psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 659-65, Nov 2012. ISSN 0706-7437 (Print)

0706-7437 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23149281> >.

MORRISS, R. et al. Differential effects of depression and mania symptoms on social adjustment: prospective study in bipolar disorder. **Bipolar Disord**, v. 15, n. 1, p. 80-91, 2013. ISSN 1399-5618 (Electronic)

1398-5647 (Linking).

MUNEER, A. Treatment of the depressive phase of bipolar affective disorder: a review. **J Pak Med Assoc**, v. 63, n. 6, p. 763-9, 2013. ISSN 0030-9982 (Print)

0030-9982 (Linking).

OLIVEIRA, P. J. et al. Carvedilol reduces mitochondrial damage induced by hypoxanthine/xanthine oxidase: relevance to hypoxia/reoxygenation injury. **Cardiovasc Toxicol**, v. 1, n. 3, p. 205-13, 2003. ISSN 1530-7905 (Print)

1530-7905 (Linking).

PARKER-ATHILL, E. et al. Flavonoids, a prenatal prophylaxis via targeting JAK2/STAT3 signaling to oppose IL-6/MIA associated autism. **J Neuroimmunol**, v. 217, n. 1-2, p. 20-7, 2009. ISSN 1872-8421 (Electronic)

0165-5728 (Linking).

PHILLIPS, M. L.; KUPFER, D. J. Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. **Lancet**, v. 381, n. 9878, p. 1663-71, 2013. ISSN 1474-547X (Electronic)

0140-6736 (Linking).

PIERRE, J. M. Mental illness and mental health: is the glass half empty or half full? **Can J Psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 651-8, Nov 2012. ISSN 0706-7437 (Print)

0706-7437 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23149280> >.

PLANTE, D. T.; WINKELMAN, J. W. Sleep disturbance in bipolar disorder: therapeutic implications. **Am J Psychiatry**, v. 165, n. 7, p. 830-43, 2008. ISSN 1535-7228 (Electronic)

0002-953X (Linking).

REMESAR-LOPEZ, A. J.; RIBEIRO, L. C. G. Os distúrbios do sono e dos ritmos circadianos nas doenças psiquiátricas. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 58, n. 8, p. 583-593, 2001.

ROBINSON, L. J.; FERRIER, I. N. Evolution of cognitive impairment in bipolar disorder: a systematic review of cross-sectional evidence. **Bipolar Disord**, v. 8, n. 2, p. 103-16, 2006. ISSN 1398-5647 (Print)

1398-5647 (Linking).

ROMANS, S. E.; MCPHERSON, H. M. The social networks of bipolar affective disorder patients. **J Affect Disord**, v. 25, n. 4, p. 221-8, 1992. ISSN 0165-0327 (Print)

0165-0327 (Linking).

ROSA, A. R. et al. Clinical predictors of functional outcome of bipolar patients in remission. **Bipolar Disord**, v. 11, n. 4, p. 401-9, 2009. ISSN 1399-5618 (Electronic)

1398-5647 (Linking).

ROSHANAIE-MOGHADDAM, B.; KATON, W. Premature mortality from general medical illnesses among persons with bipolar disorder: a review. **Psychiatr Serv**, v. 60, n. 2, p. 147-56, 2009. ISSN 1557-9700 (Electronic)

1075-2730 (Linking).

ROWLEY, H. L. et al. Lisdexamfetamine and immediate release d-amphetamine - differences in pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships revealed by striatal microdialysis in freely-moving rats with simultaneous determination of plasma drug concentrations and locomotor activity. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 6, p. 1064-74, 2012. ISSN 1873-7064 (Electronic)

0028-3908 (Linking).

SANCHES, R. F.; ASSUNÇÃO, S.; HETEM, L. Impacto da comorbidade no diagnóstico e tratamento do transtorno bipolar. **Rev Psiquiatr Clín**, v. 32, n. supl 1, p. 71-77, 2005.

SANI, G. et al. The wnt pathway in mood disorders. **Curr Neuropharmacol**, v. 10, n. 3, p. 239-53, 2012. ISSN 1570-159X (Print)

1570-159X (Linking).

SAVITZ, S. I. et al. The novel beta-blocker, carvedilol, provides neuroprotection in transient focal stroke. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 20, n. 8, p. 1197-204, 2000. ISSN 0271-678X (Print)

0271-678X (Linking).

SCHIMITT, R. L.; HIDALGO, M. P. L.; CAUMO, W. Ritmo social e suas formas de mensuração: uma perspectiva histórica. **Estudos e Pesquisas em Psicologia**, v. 10, n. 2, p. 457-470, 2010. ISSN 1808-4281.

SHAO, L.; YOUNG, L. T.; WANG, J. F. Chronic treatment with mood stabilizers lithium and valproate prevents excitotoxicity by inhibiting oxidative stress in rat cerebral cortical cells. **Biol Psychiatry**, v. 58, n. 11, p. 879-84, 2005. ISSN 0006-3223 (Print)

0006-3223 (Linking).

SILVER, J. M. et al. Propranolol treatment of chronically hospitalized aggressive patients. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci**, v. 11, n. 3, p. 328-35, 1999. ISSN 0895-0172 (Print)

0895-0172 (Linking).

SYLVIA, L. G. et al. Life events and social rhythms in bipolar spectrum disorders: a prospective study. **Behav Ther**, v. 40, n. 2, p. 131-41, 2009. ISSN 1878-1888 (Electronic)

0005-7894 (Linking).

TAYLOR, M. et al. Early intervention for bipolar disorder: current imperatives, future directions. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 33 Suppl 2, p. s197-212, Oct 2011. ISSN 1809-452X (Electronic)

1516-4446 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22286568> >.

TEIXEIRA, A. L. et al. Novel biomarkers for bipolar disorder. **Expert Opin Med Diagn**, v. 7, n. 2, p. 147-59, 2013. ISSN 1753-0067 (Electronic)

1753-0059 (Linking).

TORRES, I. J. et al. Relationship between cognitive functioning and 6-month clinical and functional outcome in patients with first manic episode bipolar I disorder. **Psychol Med**, v. 41, n. 5, p. 971-82, 2011. ISSN 1469-8978 (Electronic)

0033-2917 (Linking).

TRIMBLE, M. R.; GEORGE, M. **Biological Psychiatry**. Wiley, 2010. ISBN 9780470975886. Disponível em: < <http://books.google.com.br/books?id=B-9rtExtQy4C> >.

TRINEI, M. et al. p66Shc, Mitochondria, and the Generation of Reactive Oxygen Species. **Methods Enzymol**, p. 00006-9, 2013. ISSN 1557-7988 (Electronic)

0076-6879 (Linking).

WANG, Z. F.; FESSLER, E. B.; CHUANG, D. M. Beneficial effects of mood stabilizers lithium, valproate and lamotrigine in experimental stroke models. **Acta Pharmacol Sin**, v. 32, n. 12, p. 1433-45, 2011. ISSN 1745-7254 (Electronic)

1671-4083 (Linking).

YATHAM, L. N. et al. PET study of the effects of valproate on dopamine D(2) receptors in neuroleptic- and mood-stabilizer-naive patients with nonpsychotic mania. **Am J Psychiatry**, v. 159, n. 10, p. 1718-23, Oct 2002. ISSN 0002-953X (Print)

0002-953X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12359678> >.

YUE, T. L. et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 263, n. 1, p. 92-8, 1992. ISSN 0022-3565 (Print)

0022-3565 (Linking).

ZAHN, T. P.; NURNBERGER, J. I., JR.; BERRETTINI, W. H. Electrodermal activity in young adults at genetic risk for affective disorder. **Arch Gen Psychiatry**, v. 46, n. 12, p. 1120-4, 1989. ISSN 0003-990X (Print)

0003-990X (Linking).