

MODELO ANIMAL DE MÂNIA INDUZIDO POR ANFETAMINA COMO MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS ALVOS TERAPÊUTICOS PARA O TRANSTORNO BIPOLAR

ANIMAL MODEL OF MANIA INDUCED BY AMPHETAMINE AS A METHOD OF IDENTIFICATION OF NEW THERAPEUTIC TARGETS FOR BIPOLAR DISORDER

Resumo: O Transtorno Bipolar é um transtorno do humor grave com grande morbidade e mortalidade. É caracterizado por recorrentes episódios de mania e depressão. Pouco se sabe sobre a precisa neurobiologia do TB, que é essencial para o desenvolvimento de terapias específicas que funcionem rapidamente e sejam mais eficazes e toleráveis que as terapias existentes. Dadas as limitações das tecnologias não invasivas atuais para estudar o cérebro humano, os modelos animais de transtornos psiquiátricos são uma das ferramentas mais importantes para os estudos neurobiológicos. Nessa revisão são abordados alguns novos alvos terapêuticos para o tratamento do transtorno bipolar, descobertos através de estudo com modelos animais. Estudos com o modelo animal de mania induzido por anfetamina apresentam excelentes resultados apontando o envolvimento do estresse oxidativo, da Proteína Quinase C e das Histonas Deacetilases na fisiopatologia do transtorno bipolar, assim como seu potencial enquanto alvos terapêuticos, porém, esses alvos devem ser continuamente explorados nos transtornos de humor.

Descritores: Transtorno bipolar, fisiopatologia, Terapêutica

Abstract: Bipolar disorder is a severe mood disorder with high morbidity and mortality. It is characterized by recurrent manic and depressive episodes. Little is known about the precise neurobiology of TB, that is essential to the development of specific therapies that work quickly and be more effective and better tolerable than existing therapies. Given the limitations of actual noninvasive technologies to study the

human brain, the animal models of psychiatric disorders are one of the most relevant tools to neurobiological studies. This review focuses in some new therapeutic targets to the treatment of bipolar disorder, discovered through the animal model studies. Studies with animal model of mania induced by amphetamine shows excellent results indicating the involvement of oxidative stress, Protein Kinase C and histone deacetylase on bipolar pathophysiology, as its potential as therapeutic targets, however, these targets should be continuously explored on mood disorders

Keywords: Bipolar disorder, Pathophysiology, Therapeutics.

Pediatra. Psiquiatra da Infância e da Adolescência. Doutorado pelo Departamento de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. E-mail: ekuczynski@uol.com.br

Introdução

O transtorno bipolar (TB) é um transtorno de humor grave com grande morbidade e mortalidade. Dados recentes apontam que cerca de 1 a 3% da população mundial é afetada por esse transtorno. O TB recebe essa denominação devido a sua característica básica de estados do humor que se alternam entre episódios maníacos onde o paciente apresenta sintomas como euforia, autoestima elevada, diminuição da necessidade de sono, irritabilidade, e o seu oposto, episódios depressivos, caracterizados por anedonia, diminuição da

libido, ideação e até mesmo tentativa de suicídio².

Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) o TB é uma das principais causas de incapacitação no mundo³. Além disso, estudos revelam que esse transtorno é o terceiro transtorno mental com maior impacto sobre a qualidade de vida do paciente e familiares, ficando abaixo da depressão maior e transtorno obsessivo compulsivo⁴. A taxa de casos não tratados no TB é 30 vezes maior que a taxa de casos tratados e a taxa de suicídio foi estimada em 19%, igualando, e talvez superando, a de depressão maior^{3,5}.

Desde a sua descoberta, cerca de 60 anos atrás, o lítio ainda é o único fármaco estabilizador do humor utilizado exclusivamente para o TB. Atualmente, além do lítio, alguns anticonvulsivantes como o valproato e a carbamazepina, e antipsicóticos atípicos, como olanzapina e quetiapina, tem sido utilizados no tratamento desse transtorno, porém esses fármacos sozinhos não apresentam total eficácia, sendo a polifarmácia altamente aplicada no tratamento⁶. Apesar da gravidade, ainda não existe um fármaco completamente eficaz para o tratamento desse transtorno, muitos pacientes, mesmo medicados, apresentam uma série de sintomas residuais ou efeitos colaterais, que diminuem a taxa de adesão ao tratamento⁷.

Analisando o quadro atual do transtorno e seu tratamento, observa-se a necessidade de mais pesquisas a procura de novas terapias para TB, porém, pouco se sabe sobre a precisa neurobiologia do TB, que é essencial para o desenvolvimento de terapias específicas que funcionem rapidamente e sejam mais eficientes e toleráveis que as terapias já existentes^{8,9}.

O principal fator que limita o conhecimento sobre a fisiopatologia dos transtornos psiquiátricos é a complexa e desafiadora neurobiologia das funções cerebrais e as dificuldades éticas e práticas de avaliar o cérebro humano vivo¹⁰. As principais vitórias em psiquiatria biológica têm surgido a partir de achados clínicos acidentais na busca de fazer engenharia reversa. Foi explorando os efeitos biológicos dos tricíclicos, antipsicóticos e lítio respectivamente, que se elucidou o papel das monoaminas em depressão, dopamina na esquizofrenia, e dos sistemas de segundo mensageiro no transtorno bipolar⁹.

Dadas as limitações das tecnologias não invasivas atuais para estudar o cérebro humano, os modelos animais de transtornos psiquiátricos são uma das ferramentas mais

importantes para os estudos neurobiológicos atuais¹⁰.

Existem três validades que devem estar presentes para um modelo animal ser considerado um bom modelo de qualquer doença, não apenas transtornos mentais. A primeira é denominada validade de face, que é a habilidade do modelo de mimetizar um ou mais sintomas presentes na clínica. A validade de constructo é a capacidade do modelo de reproduzir alterações fisiopatológicas da doença, e por último, a validade preditiva se refere à capacidade do modelo de responder aos tratamentos clássicos utilizados na clínica I.

Atualmente, não existe um modelo que consiga induzir os dois espectros do TB no mesmo animal, sendo assim, modelos animais de mania tem sido amplamente utilizados para estudar essa condição¹⁰. Estudos demonstraram que psicoestimulantes, como a anfetamina, são capazes de produzir sintomas do tipo maníaco em controles saudáveis assim como induzir episódios maníacos em pacientes bipolares¹². A partir desses resultados começou-se a estudar a administração de anfetamina como modelo de mania, e observou-se que animais submetidos a esse protocolo apresentam hiperatividade locomotora, aumento na liberação de dopamina na fenda sináptica e essas alterações são revertidas após o tratamento com lítio e valproato¹³.

Nosso grupo tem se dedicado a descobrir novos alvos bioquímicos, assim como sugerir novos compostos com potenciais terapêuticos utilizando modelos animais de transtornos psiquiátricos. Nesse trabalho iremos enfatizar nossos principais achados neurobiológicos para o TB através de estudos com modelo animal de mania induzido por anfetamina.

Desenho Experimental

O modelo animal induzido por anfetamina possui dois protocolos, que são classificados devido à ordem de administração da droga e dos fármacos. Esses protocolos são denominados reversão ou prevenção como descrito por Frey e colaboradores¹³.

O protocolo de reversão é projetado para reproduzir o mecanismo do tratamento de um episódio maníaco agudo. Para isso, os animais recebem injeções intraperitoneais diárias de anfetamina (2mg/kg) durante sete dias, a fim de mimetizar no animal um episódio maníaco. Entre o oitavo e o décimo quarto dia de tratamento, além das injeções de anfetamina, os animais recebem injeções de um estabilizador do humor classicamente utilizado na clínica para simular o tratamento de pacientes. Vinte

ARTIGO DE REVISÃO

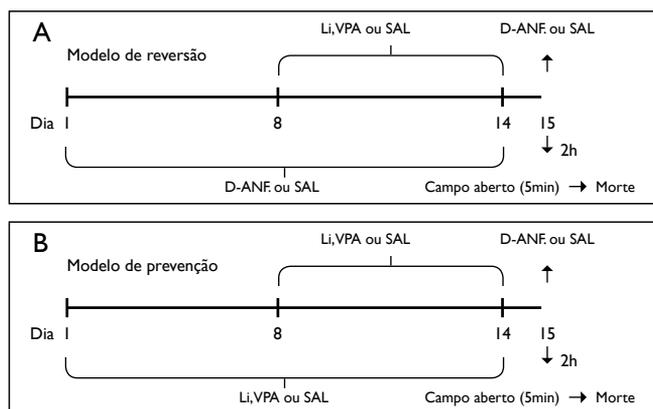
**ROGER BITENCOURT VARELA¹,
WILSON RODRIGUES RESENDE¹,
** JOÃO QUEVEDO^{1,2}**

REVISÃO

e quatro horas após as últimas aplicações, o animal recebe uma única injeção de anfetamina, para avaliar apenas o efeito crônico do tratamento, e é submetido ao teste de campo aberto para avaliação da atividade locomotora após duas horas, tempo de ação da anfetamina (fig. A).

O protocolo de prevenção visa mimetizar a fase de manutenção do tratamento de TB. Para isso, nos primeiros sete dias os animais recebem diariamente injeções de estabilizador de humor, e do oitavo ao décimo quarto dia, além do tratamento, os animais recebem injeções diárias de anfetamina, a fim de reproduzir os efeitos do tratamento prévio sobre um novo episódio maníaco. 24 horas após as últimas injeções, o animal recebe uma única injeção de anfetamina, e é submetido ao teste de campo aberto duas horas após (Fig. B).

Figura 1: Desenho experimental dos protocolos de reversão e prevenção do modelo animal de mania induzido por anfetamina



Legenda: (A) Modelo de reversão, do 1º ao 7º dia é administrado somente uma vez ao dia, o tratamento com antimaníaco começa a partir do 8º dia. No 15º os animais recebem somente anfetamina 2 horas antes do teste de campo aberto. (B) Modelo de prevenção, do 1º ao 7º dia os animais são tratados com antimaníacos ou soro uma vez ao dia, a partir do 8º dia começa-se administrar anfetamina ou soro. No 15º os animais recebem somente anfetamina 2 horas antes do teste de campo aberto.

Em um primeiro estudo do nosso grupo mostramos a eficácia dos dois protocolos. A administração de anfetamina foi capaz de causar hiperatividade locomotora nos animais, um parâmetro de comportamento maníaco, tanto no protocolo de reversão quanto no de prevenção. O tratamento com Li e VPA, fármacos classicamente utilizados na clínica, também foram capazes de prevenir e reverter esse aumento da atividade locomotora, contemplando as validades de face e preditiva de ambos os protocolos¹³.

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, uma série de

alvos bioquímicos foi avaliada assim como novos compostos e fármacos já utilizados em outras doenças foram testados nesse contexto. Os resultados mais significantes e inovadores da nossa pesquisa serão apresentados a seguir.

Novos Alvos Terapêuticos

Estresse oxidativo e modelo animal de mania

O cérebro é um órgão que necessita de uma grande demanda energética, energia essa armazenada na forma de adenosina trifosfato (ATP) gerada na mitocôndria durante a respiração celular. Porém, durante esse processo também são geradas espécies reativas de oxigênio (EROs), superóxido e peróxido de hidrogênio. Essas moléculas, denominadas radicais livres são altamente reativas e podem reagir e causar danos à diversas estruturas celulares¹⁴. O organismo possui enzimas denominadas antioxidantes que formam um sistema próprio de defesa natural contra os radicais livres. Dentre elas pode-se destacar a superóxido desmutase (SOD) e catalase (CAT). Essas enzimas podem reagir com essas moléculas, neutralizando-as antes que causem dano ou reparando o dano causado pelos radicais livres^{15,16}. Estresse oxidativo é o termo utilizado para expressar situações em que a geração de radicais livres excede a capacidade de defesa antioxidante, podendo causar danos diretos a proteínas celulares, lipídios e DNA, afetando o funcionamento normal e sobrevivência celular¹⁷. Como o cérebro é mais vulnerável a produção de EROs devido a sua alta atividade metabólica e possui uma capacidade limitada de antioxidantes¹⁸, acaba por possuir um delicado equilíbrio entre dano e proteção se tornando mais suscetível ao estresse oxidativo.

De fato alguns estudos com pacientes bipolares têm mostrado a presença de estresse oxidativo em sangue^{19,20,21} e cérebros de humanos em estudos post-mortem²¹. Com base nesse dados, nosso grupo investigou a relação do estresse oxidativo e a neurobiologia do TB. Nossos principais resultados que serão discutidos a seguir estão representados na Quadro.

Da-Rosa e colaboradores²³ e Frey e colaboradores²⁴ mostraram um aumento dos níveis de proteínas carboniladas, espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e superóxido após a administração crônica de anfetamina. Em outro estudo, Andreatza e colaboradores²⁵ descreveram que o modelo animal de mania induzido por anfetamina, tanto no protocolo de reversão quanto no protocolo de prevenção,

é capaz de causar dano ao DNA, porém o tratamento com Li e VPA não protegeu contra esse dano. Além de aumentar parâmetros de dano, a administração de anfetamina também diminuiu as atividades das enzimas antioxidantes SOD e CAT²⁶.

Frey e colaboradores²⁷ analisaram marcadores de dano neuronal e enzimas antioxidantes em um mesmo estudo e mostrou que o modelo de mania induzido por anfetamina foi capaz de gerar estresse oxidativo no cérebro de animais e que o tratamento com Li e VPA exerce efeito protetor sobre esses parâmetros.

Baseados na estreita relação entre estresse oxidativo e a fisiopatologia do TB evidenciada pelos estudos anteriores, Valvassori e colaboradores²⁸ avaliaram os efeitos do tratamento com dois antioxidantes, N-Acetilcisteína (NAC) e deferoxamina (DFX), sobre modelo animal de mania, para descrever os efeitos da modulação desse alvo especificamente. Nesse estudo os autores mostraram que o tratamento com os antioxidantes não foi capaz de reverter ou prevenir a hiperatividade causada pela anfetamina, porém, pode proteger parcialmente sobre os danos através do estresse oxidativo induzido pela anfetamina.

Apesar da vasta gama de evidências na literatura que apontam o importante papel do estresse oxidativo na fisiopatologia no TB, terapias que agem especificamente sobre esse alvo ainda são pouco discutidas. Substâncias com potencial antioxidante ou sua associação com outros fármacos podem ser uma alternativa viável para o tratamento, porém mais estudos são necessários para o melhor entendimento das vias relacionadas ao estresse oxidativo, bem como a investigação de novos alvos farmacológicos com ação nesse sistema para o tratamento do TB.

Proteína Quinase C e modelo animal de mania

A Proteína Quinase C (PKC) é uma grande família de proteínas quinase que é responsável pela transdução de diversos tipos de sinais extracelulares. Uma única célula pode expressar diversos isotipos de PKC, de acordo com seu isotipo essa proteína modula diferentes funções biológicas na célula, entre elas, crescimento celular, diferenciação, apoptose e liberação de neurotransmissores^{29,30,31}. Dentre os sistemas de neurotransmissão modulados por essa proteína, está amplamente descrito na literatura a importância da PKC sobre a sinalização dopaminérgica, modulando os processos de internalização, transporte e reciclagem desse neurotransmissor^{32,33}. A PKC age, principalmente, inibindo a atividade e expressão

dos receptadores de dopamina, consequentemente, aumentando sua atividade na fenda sináptica³⁴.

Diversos estudos clínicos têm demonstrado que o tamoxifeno (TMX), um inibidor sintético de estrogênio, o qual é amplamente utilizado no tratamento de câncer de mama, foi eficaz também para o tratamento da mania aguda em pacientes bipolares^{35,36,37}. Além da inibição de estrogênio, outro mecanismo de ação do TMX é a inibição da atividade da PKC, sendo assim, com base nessas observações a inibição da PKC foi proposta como um mecanismo terapêutico promissor para o tratamento do TB³⁸.

Diversos estudos avaliando o papel da PKC na fisiopatologia do TB foram realizados pelo nosso grupo, os principais trabalhos sobre esse possível alvo terapêutico estão representados no quadro.

Cechinel-Recco e colaboradores³⁹, primeiramente descreveram que o tratamento com TMX teve resultados semelhantes ao Li em animais submetidos ao modelo animal de mania, revertendo a hiperatividade induzida pela anfetamina. A administração de anfetamina também causou um aumento dos níveis de PKC, sendo esses reduzidos após o tratamento com Li e TMX, evidenciando o envolvimento do aumento dos níveis da PKC com o comportamento do tipo maníaco apresentado pelos animais, sendo que a inibição da PKC causaria subsequente redução dos níveis de dopamina na fenda sináptica. Além disso, o tratamento com TMX foi capaz de reverter as alterações causadas nos níveis de pPKA, pCREB, GSK-3, pGSK-3, BDNF e NGF, proteínas relacionadas a plasticidade e morte celular, amplamente discutida na literatura como papel chave na diminuição do volume cerebral vista em pacientes⁴⁰, correlacionando esses resultados com a inibição da PKC.

Outro estudo analisou os efeitos da inibição de PKC pela administração de TMX sobre o metabolismo energético no modelo de anfetamina. A administração de TMX reverteu a diminuição da atividade dos complexos I, II, III, IV da cadeia respiratória mitocondrial causada pela anfetamina, totalmente no protocolo de prevenção e parcialmente no protocolo de reversão. A atividade da creatina quinase, enzima que mantém os níveis de ATP elevados em situações de baixo metabolismo energético⁴¹, também foi diminuída em algumas estruturas pela administração de anfetamina e foi parcialmente revertida pela administração de TMX⁴².

Os efeitos da inibição da PKC sobre os parâmetros de estresse oxidativo também foram avaliados. Steckert e colabo-

radores⁴³ mostraram que o tratamento com TMX reverteu parcialmente o aumento dos marcadores de dano celular, superóxido, TBARS e proteínas carboniladas e a diminuição da enzima antioxidante superóxido dismutase causada pela anfetamina. Esses resultados sugerem que a inibição de PKC pode exercer um efeito antioxidante.

Esses resultados destacam o envolvimento da PKC na fisiopatologia do TB e a importância da sua modulação como possível novo alvo terapêutico. A investigação de outras vias e efeitos da inibição da PKC ainda se faz necessários, da mesma forma que estudos que busquem novos compostos que ajam sobre esse alvo específico são de extrema relevância científica.

Histonas deacetilases e modelo animal de mania

As histonas são proteínas responsáveis pelo empacotamento e organização do DNA em nucleossomos, desempenhando um papel importante na regulação da expressão gênica⁴⁴. Essas proteínas possuem sítios de ligação para grupamentos acetil, a enzima histona acetiltransferase é responsável por adicionar grupamentos acetil nesses sítios da histona, afastando umas das outras facilitando o acesso de fatores de transcrição ao DNA promovendo a transcrição gênica. Por outro lado, histonas deacetilases (HDAC) são enzimas que catalisam a remoção de grupos acetil dos sítios de ligação, aproximando as histonas resultando em um nucleossomo mais condensado e induzindo o silenciamento da expressão gênica^{45,46}.

Alguns compostos com diferentes grupos estruturais têm a capacidade de inibir a atividade das HDAC, aumentando os níveis de acetilação de proteínas histonas, facilitando assim a transcrição de proteínas, auxiliando nos processos de sobrevivência, crescimento e funcionamento neural⁴⁷. Um dos alvos do VPA, fármaco utilizado no tratamento de mania aguda, é a inibição das classe I e IIa das HDAC^{48,49,50}, porém seu uso está atrelado a vários efeitos colaterais de toxicidade⁵¹. Baseando-se nesse mecanismo de ação do VPA especificamente, tem se buscado novos fármacos com estrutura e ação parecidos, mas que apresentem menos efeitos colaterais.

O butirato de sódio, amplamente estudado para o tratamento de câncer^{52,53,54,55} e é um composto com um mecanismo de ação específico em inibir a atividade das HDACs⁵⁶. Alguns estudos mostraram que o butirato de sódio e o VPA controlam através de mecanismos epigenéticos a cognição e o comportamento⁴⁶, sendo assim, nosso grupo objetivou-se

a estudar o papel das histonas deacetilases no TB através do tratamento com butirato de sódio no modelo animal de mania induzido por anfetamina. Nossos principais resultados que serão discutidos abaixo estão dispostos no quadro.

Primeiramente Arent e colaboradores⁵⁷ delinearão o perfil neuroanatômico dos efeitos da inibição de histonas deacetilases sobre o modelo animal de mania induzido por anfetamina. Nesse estudo, os animais foram submetidos ao modelo, porém o tratamento foi realizado com injeções intracerebroventriculares em estruturas específicas. Os autores descreveram que o tratamento na amígdala, estriado e hipocampo isoladamente diminuíram a atividade das HDACs e reverteu a hiperatividade induzida pela anfetamina, evidenciando a relação entre a inibição das HDACs com o comportamento do tipo maníaco.

A partir desses resultados, diversos outros estudos foram realizados com o intuito de investigar os efeitos da inibição de HDAC sobre outros parâmetros de avaliação. A relação entre butirato de sódio e metabolismo energético foi descrita nos estudos de Valvassori e colaboradores⁵⁸ e Moretti e colaboradores⁵⁹, onde foi relatado que o butirato de sódio atua nas enzimas do ciclo de Krebs protegendo contra a redução da atividade dessas enzimas além de reverter a inibição dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial causada pela administração de anfetamina.

Os parâmetros de estresse oxidativo também foram avaliados após o tratamento com butirato de sódio, foi relatado que o tratamento com butirato além de reverter o aumento de parâmetros de dano, como TBARS, superóxido e proteínas também protegeu contra a inibição de SOD causada pela administração de anfetamina⁶⁰.

Nossos resultados, assim como de diversos outros grupos, demonstram a relevância da modulação de mecanismos epigenéticos como alternativas promissoras para o tratamento de diversos transtornos psiquiátricos. Pesquisas sobre esse novo alvo terapêutico para o tratamento do TB ainda são escassas na literatura, sendo de grande importância estudos que descrevam mais detalhadamente os mecanismos de substâncias já conhecidas, assim como apontar novos compostos que possam ter melhores efeitos que os tratamentos atuais.

Quadro 1: Estudos sobre novos alvos terapêuticos em modelo animal de mania induzido por Anfetamina

| Alvo | Autor | Tratamento | Parâmetros avaliados | Estruturas |
|--------------------|-------------------------------|-------------------|--|---|
| Estresse oxidativo | Frey B.N. et al., 2006b | **** | Níveis de superóxido e TBARS em partículas submitocondrial | Cortex pré frontal |
| | Frey B.N. et al., 2006c | **** | Atividades da SOD e CAT | Pré frontal, Hipocampo e estriado |
| | Frey B.N. et al., 2006d | Li e VPA | Níveis de TBARS; atividade da SOD E CAT | Pré frontal e Hipocampo |
| | Andreazza et al., 2008 | Li e VPA | Micro núcleo; Níveis de TBARS; atividade da SOD E CAT | Hipocampo e sangue |
| | Valvassori S.S. et al., 2008 | Nac e DFX | Níveis de proteínas carboniladas | Pré frontal e Hipocampo |
| | da-Rosa D.D. et al., 2012 | **** | Níveis de TBARS e proteínas carboniladas | Pré frontal, Hipocampo, Amígdala e estriado |
| Alvo | Autor | Tratamento | Parâmetros avaliados | Estruturas |
| PKC | Moretti M. et al. (2011) | TMX | Complexos da cadeia respiratória e atividade da creatina quinase | Pré frontal, Hipocampo, Amígdala e estriado |
| | Cechinel-Recco et al., (2012) | TMX | pPKC; NGF; BDNF; pCREB; pPKA; GSK-3 e pGSK-3 | Pré frontal, Hipocampo, Amígdala e estriado |
| | Steckert A.V. et al., (2012) | TMX | Níveis de TBARS e Carbinil; atividades da SOD e CAT | Pré frontal, Hipocampo, Amígdala e estriado |
| Alvo | Autor | Tratamento | Parâmetros avaliados | Estruturas |
| HDAC | Arent C. O. et al., 2011 | Butirato de sódio | Níveis de HDAC | Pré frontal, Hipocampo, Amígdala e estriado |
| | Moretti M. et al., 2011 | Butirato de sódio | Complexos da cadeia respiratória | Pré frontal, Hipocampo, Amígdala e estriado |
| | Steckert A.V. et al., 2013 | Butirato de sódio | Níveis de superóxido e TBARS em partículas submitocondrial; Níveis de TBARS e proteínas carboniladas | Pré frontal, Hipocampo, Amígdala e estriado |
| | Valvassori S.S. et al., 2013 | Butirato de sódio | Atividades do ciclo de Krebs | Pré frontal, Hipocampo e estriado |

Legenda: estudos de modelo animal de mania por anfetamina que tiveram como alvos terapêuticos estresse oxidativo, PKC e HDAC.

Conclusão

Apesar do grande avanço das técnicas não invasivas para estudos neurobiológicos, os modelos animais ainda são de extrema importância para a investigação de novos alvos terapêuticos assim como testes pré-clínicos de novos fármacos e terapias para os transtornos psiquiátricos. Nossos estudos com o modelo animal de mania induzido por anfetamina apresentam excelentes resultados apontando a PKC, as HDAC e o estresse oxidativo enquanto alvos terapêuticos, porém, esses alvos devem

ser continuamente explorados nos transtornos de humor.

Agradecimentos

O laboratório de neurociências é um dos centros do Instituto Nacional de Medicina Translacional (INCT-TM) e um dos membros do Centro de Excelência em Neurociências Aplicadas de Santa Catarina (NENASC). Nossa pesquisa foi subsidiada pelo CNPq, FAPESC, Instituto Cérebro e Mente e UNESC. Os autores, no presente estudo, não possuem conflitos de interesse.

Correspondência:

Prof. João Quevedo, MD, PhD
Laboratório de Neurociências, PPGCS, UNASAU,
Universidade do Extremo Sul Catarinense
Avenida Universitária, 1105
88806-000 – Criciúma – SC
e-mail: joq@unesoc.net

Fontes de auxílio: CNPq, FAPESC, Instituto Cérebro
e Mente e UNESOC.

Conflitos de interesse: Inexistente

Referências

1. Keck PE, McElroy SL, Arnold LM. Bipolar disorder. *Med Clin North Am.* 2001; 85:645–661.
2. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5.* 5ª ed. Washington: American Psychiatric Publishing; 2013.
3. Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 1997; 349:1436–42.
4. Subramaniam M, Abidin E, Vaingankar JA, Nan L, Heng D, McCrone P, Chong SA. Impact of psychiatric disorders and chronic physical conditions on health-related quality of life: Singapore Mental Health Study. *J Affect Disord.* 2013 May;147:325–30.
5. Müller-Oerlinghausen B, Berghöfer A, Bauer M. Bipolar disorder. *Lancet.* 2002;359:241–7.
6. Kapczinski F, Hallak JE, Nardi AE, Roesler R, Quevedo J, Schröder N, Crippa JA. Brazil launches an innovative program to develop the National Institutes for Science and Technology (INCTs): the INCT for Translational Medicine. *Rev Bras Psiquiatr.* 2009 Sep;31:197–9. No abstract available.
7. Geddes JR, Miklowitz DJ. Treatment of bipolar disorder. *Lancet.* 2013; 381:1672–1682
8. Keck PE Jr, Kessler RC, Ross R. Clinical and economic effects of unrecognized or inadequately treated bipolar disorder. *J Psychiatr Pract.* 2008;2:31–8
9. Dean OM, Bush AI, Berk M. (2012) Translating the rosetta stone of N-acetylcysteine. *Biol. Psychiatry* 71: 935–936
10. Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci.* 2010 ;13:1161–9
11. McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: Challenges in enabling translation. *Biochem Pharmacol.* 2013 ; pii: S0006-295200492-9.
12. Young AH, Macpherson H. Detection of bipolar disorder. *Br J Psychiatry.* 2011 Jul;199:3–4.
13. Frey BN, Valvassori SS, Réus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J Psychiatry Neurosci.* 2006 ;31:326–32.
14. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev.* 1979; 59:527–605.
15. Reddy R, Sahebarao MP, Mukherjee S, Murthy JN. Enzymes the antioxidant defense system in chronic schizophrenic patients. *Biol Psychiatry.* 1991; 30:109–412
16. Kapczinski F, Frey BN, Andreazza AC, Kauer-Sant'Anna M, Cunha AB, Post RM. Increased oxidative stress as a mechanism for decreased BDNF levels in acute manic episodes. *Rev Bras Psiquiatr.* 2008; 30:243–245.
17. Steckert AV, Valvassori SS, Moretti M, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Role of oxidative stress in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neurochem Res.* 2010;35:1295–301.
18. Floyd RA. Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999; 222:236–245.
19. Magalhães PV, Jansen K, Pinheiro RT, Colpo GD, da Motta LL, Klamt F, da Silva RA, Kapczinski F. Peripheral oxidative damage in early-stage mood disorders: a nested population-based case-control study. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2012; 15:1043–1050.
20. Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, Moreira JC, de Bittencourt Pasquali MA, Fries GR, Quevedo J, Gama CS, Post R. Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J Psychiatr Res.* 2011; 45:156–161.
21. Kunz M, Gama CS, Andreazza AC, Salvador M, Ceresér KM, Gomes FA, Belmonte-de-Abreu PS, Berk M, Kapczinski F. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008; 32:1677–81.
22. Gawryluk JW, Wang JF, Andreazza AC, Shao L, Young LT. Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant,

in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2011; 14:123-130.

23. da-Rosa DD, Valvassori SS, Steckert AV, Arent CO, Ferreira CL, Lopes-Borges J, Varela RB, Mariot E, Dal-Pizzol F, Andersen ML, Quevedo J. Differences between dextroamphetamine and methamphetamine: behavioral changes and oxidative damage in brain of Wistar rats. *J Neural Transm.* 2012 ;119:31-8.

24. Frey BN, Valvassori SS, Gomes KM, Martins MR, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Increased oxidative stress in submitochondrial particles after chronic amphetamine exposure. *Brain Res.* 2006b;30(1):224-229.

25. Andrezza AC, Kauer-Sant'Anna M, Frey BN, Stertz L, Zanotto C, Ribeiro L, Giasson K, Valvassori SS, Réus GZ, Salvador M, Quevedo J, Gonçalves CA, Kapczinski F. Effects of mood stabilizers on DNA damage in an animal model of mania. *J Psychiatry Neurosci.* 2008 Nov;33(6):516-24.

26. Frey BN, Valvassori SS, Réus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Changes in antioxidant defense enzymes after d-amphetamine exposure: implications as an animal model of mania. *Neurochem Res.* 2006c; 31(5):699-703.

27. Frey BN, Valvassori SS, Réus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J Psychiatry Neurosci.* 2006d;31(5):326-332.

28. Valvassori SS, Petronilho FC, Réus GZ, Steckert AV, Oliveira VB, Boeck CR, Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Effect of N-acetylcysteine and/or deferoxamine on oxidative stress and hyperactivity in an animal model of mania. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008 May 15;32:1064-8.

29. Ohno S, Nishizuka Y. Protein Kinase C isotypes and their specific functions: Prologue. *J Biochem.* 2002; 132:509-511

30. Sanchez-Bautista S, Nicolas FE. Recent patents concerning modulators of protein kinase C. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences.* 2013; 7, 74-81.

31. Wu-Zhang AX, Newton AC. Protein Kinase C pharmacology: Refining the toolbox. *Biochem. J.* 2013; 452:195:219.

32. Melikian HE. Neurotransmitter transport trafficking: endocytosis, recycling and regulation. *Pharmacology & Therapeutics.* 2004; 104:17-27.

33. Nissen-Meyer LSH, Chaudhry FA. Protein kinase

C phosphorylates the system N glutamine transporter SNI (Slc38a3) and regulates its membrane trafficking and degradation. *Frontiers in endocrinology.* 2013; 4:138.

34. Robinson MB. Regulated trafficking of neurotransmitter transporters: common notes but different melodies. *J Neurochem.* 2002; 80:1-11.

35. Zarate CA Jr, Singh JB, Carlson PJ, Quiroz J, Jolkovsky L, Luckenbaugh DA, Manji HK. Efficacy of a protein kinase C inhibitor (tamoxifen) in the treatment of acute mania: a pilot study. *Bipolar Disord.* 2007;9:561-70.

36. Yildiz A, Guleryuz S, Ankerst DP, et al. Protein kinase C inhibition in the treatment of mania: a double-blind, placebocontrolled trial of tamoxifen. *Arch Gen Psychiatry* 2008; 65:255- 63.

37. Yildiz A, Vieta E, Tohen M, Baldessarini RJ. Factors modifying drug and placebo responses in randomized trials for bipolar mania. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2011;14:863-75.

38. Zarate CA, Manji HK. Protein Kinase C Inhibitors: Rationale for Use and Potential in the Treatment of Bipolar Disorder. *CNS Drugs.* 2009; 23:569-582.

39. Cechinel-Recco K, Valvassori SS, Varela RB, Resende WR, Arent CO, Vitto MF, Luz G, de Souza CT, Quevedo J. Lithium and tamoxifen modulate cellular plasticity cascades in animal model of mania. *J Psychopharmacol.* 2012;26:1594-604.

40. Brambilla P, Glahm DC, Balestrieri M, Soares JC. Magnetic Resonance Findings in Bipolar Disorder. *Psychiatr. Clin. N. Am.* 2005; 28:443-467.

41. Lipskaya TY. The physiological role of the creatine kinase system: evolution of views. *Biochemistry (Mosc).* 2001; 66:115-129.

42. Moretti M, Valvassori SS, Steckert AV, Rochi N, Benedet J, Scaini G, Kapczinski F, Streck EL, Zugno AI, Quevedo J. Tamoxifen effects on respiratory chain complexes and creatine kinase activities in an animal model of mania. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011 ;98:304-10.

43. Steckert AV, Valvassori SS, Mina F, Lopes-Borges J, Varela RB, Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Protein kinase C and oxidative stress in an animal model of mania. *Curr Neurovasc Res.* 2012 ;9:47-57.

44. Choudhary C, Kumar C, Gnäd F, Nielsen ML, Rehman M, Walther TC, Olsen JV, Mann M. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science.* 2009; 325:834-40.

45. Tsankova N, Renthal W, Kumar A, Nestler EJ.

Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2007; 8:355-67.

46. Machado-Vieira R, Ibrahim L, Zarate CA Jr. Histone Deacetylases and Mood Disorders: Epigenetic Programming in Gene-Environment Interactions. *CNS Neurosci Ther*. 2011; 17:699-04.

47. New M, Olzscha H, La Thangue NB. HDAC inhibitor-based therapies: can we interpret the code? *Mol Oncol*. 2012; 6:637-56.

48. Chiu CT, Wang Z, Hunsberger JG, Chuang DM. Therapeutic potential of mood stabilizers lithium and valproic acid: beyond bipolar disorder. *Pharmacol Rev*. 2013; 65:105-42.

49. Göttlicher M, Minucci S, Zhu P, Krämer OH, Schimpf A, Giavara S, Sleeman JP, Coco FL, Nervi C, Pelicci PG, Heinzell T. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. *EMBO J*. 2001; 20:6969-78.

50. Gurvich N, Tsygankova OM, Meinkoth JL, Klein PS. Histone deacetylase is a target of valproic acid-mediated cellular differentiation. *Cancer Res*. 2004; 64:1079-86.

51. Genton P, Semah F, Trinko E. Valproic acid in epilepsy: pregnancy-related issues. *Drug Saf*. 2006; 29:1-21.

52. Dos Santos MP, de Farias CB, Roesler R, Brunetto AL, Abujamra AL. In vitro antitumor effect of sodium butyrate and zoledronic acid combined with traditional chemotherapeutic drugs: a paradigm of synergistic molecular targeting in the treatment of Ewing sarcoma. *Oncol Rep*. 2013; In press.

53. Taylor D, Hahn ER, Kale RK, Singh SV, Singh RP. Sodium butyrate induces DRP1-mediated mitochondrial fusion and apoptosis in human colorectal cancer cells. *Mitochondrion*. 2013; In Press

54. Gonçalves P, Martel F. Butyrate and colorectal cancer: the role of butyrate transport. *Curr Drug Metab*. 2013;14:994-1008.

55. Mu D, Gao Z, Guo H, Zhou G, Sun B. Sodium Butyrate Induces Growth Inhibition and Apoptosis in Human Prostate Cancer DU145 Cells by Up-Regulation of the Expression of Annexin A1. *PLoS One*. 2013; 8(9):e74922.

56. Davie JR. Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate. *J Nutr*. 2003; 133:2485-2493.

57. Arent CO, Valvassori SS, Fries GR, Stertz L, Ferreira CL, Lopes-Borges J, Mariot E, Varela RB, Ornell F, Kapczinski F, Andersen ML, Quevedo J. Neuroanatomical profile of antimaniac effects of histone deacetylases inhibitors. *Mol Neurobiol*. 2011; 43:207-14.

58. Valvassori SS, Calixto KV, Budni J, Resende WR, Varela RB, de Freitas KV, Gonçalves CL, Streck EL, Quevedo J. Sodium butyrate reverses the inhibition of Krebs cycle enzymes induced by amphetamine in the rat brain. *J Neural Transm*. 2013; 120:1737-42.

59. Moretti M, Valvassori SS, Varela RB, Ferreira CL, Rochi N, Benedet J, Scaini G, Kapczinski F, Streck EL, Zugno AI, Quevedo J. Behavioral and neurochemical effects of sodium butyrate in an animal model of mania. *Behav Pharmacol*. 2011; 22:766-72.

60. Steckert AV, Valvassori SS, Varela RB, Mina F, Resende WR, Bavaresco DV, Ornell F, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Effects of sodium butyrate on oxidative stress and behavioral changes induced by administration of D-AMPH. *Neurochem Int*. 2013; 62:425-32