

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

CAMILA SEBASTIÃO MODEL

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS NEUROQUÍMICOS E
COMPORTAMENTAIS DA ADMINISTRAÇÃO DE ÔMEGA-3 EM
MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO PELO FEMPROPOREX**

CRICIÚMA, JULHO DE 2013

CAMILA SEBASTIÃO MODEL

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS NEUROQUÍMICOS E
COMPORTAMENTAIS DA ADMINISTRAÇÃO DE ÔMEGA-3 EM
MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO PELO FEMPROPOREX**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde para obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde

Orientador: Prof. Dr. Emilio Luiz Streck

CRICIÚMA, JULHO DE 2013

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Bioenergética e do Laboratório de Neurociências do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Universidade do Extremo Sul Catarinense.

Dedico este trabalho, toda a minha gratidão e todo o meu amor mais puro aos meus

pais João e Maria.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida maravilhosa que me deu;

A todos os meus amigos e a família, pela energia positiva sempre.

Às minhas amigas Cinara e Dhébora, pessoas muito especiais que conheci nesta caminhada, e que significam muito pra mim.

Às minhas amigas Giselli, Isabela, Gislaine, Mariane, Thais e Ândrea pela amizade e pelos bons momentos compartilhados nessa etapa.

À minha amiga Gabriela, pela amizade e pelo enorme apoio para que o meu trabalho fosse realizado.

Às bolsistas do laboratório de Bioenergética, e dos demais laboratórios, que trabalharam em parceria com o nosso grupo, para a conclusão deste trabalho.

Ao meu namorado Guilherme pelo carinho e pelo incentivo.

Às minhas colegas de trabalho na farmácia, pelo apoio recebido.

Ao meu orientador Emílio, pelos ensinamentos, pelo incentivo profissional e pela oportunidade.

Ao apoio financeiro recebido da Secretaria de Estado da Educação de Santa Catarina.

RESUMO

O transtorno bipolar é uma doença psiquiátrica complexa, incapacitante, com altas taxas de morbidade e mortalidade. A mania é uma fase deste transtorno em que o paciente apresenta-se bastante eufórico e agitado. O tratamento farmacológico costuma ser de difícil adesão. Como ferramenta experimental para indução de mania, utiliza-se o cloridrato de femproporex, visto que reproduz nos animais sintomas de hiperatividade, característica presente nos pacientes. Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 possuem propriedades benéficas para o sistema nervoso central, sendo, entre outras ações, facilitadores da ligação de neurotransmissores com seus receptores. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos neuroquímicos e comportamentais da administração de ômega-3 em cérebros de ratos adultos submetidos a um modelo de mania pelo femproporex. Para este experimento, ratos Wistar machos adultos de 60 dias foram submetidos a um tratamento de 14 dias, recebendo ômega-3 por via intragástrica na dose de 0,8g/kg de peso corporal, e cloridrato de femproporex via intraperitoneal na dose de 12,5mg/kg de peso corporal. O trabalho foi dividido em duas etapas: prevenção e reversão. Na etapa de prevenção os animais receberam primeiramente ômega-3, e a partir do sétimo dia, cloridrato de femproporex. Na etapa de reversão, os animais receberam inicialmente cloridrato de femproporex, e a partir do sétimo dia receberam ômega-3. No décimo quarto dia de tratamento, duas horas após a última administração de femproporex, os animais foram submetidos ao teste de habituação em campo aberto que avalia o comportamento locomotor e exploratório dos animais. Logo após, foram eutanasiados, e as estruturas cerebrais hipocampo, estriado, córtex cerebral e córtex pré-frontal foram isoladas para as dosagens de dano oxidativo a lipídeos e proteínas TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e carbonil respectivamente. Como resultado, no teste comportamental houve um aumento no comportamento locomotor dos animais, no grupo femproporex em relação ao controle, mimetizando os sintomas da mania, nas etapas de prevenção e reversão. Não foram observadas alterações em relação ao comportamento exploratório. O ômega-3 preveniu a hiperatividade causada pelo femproporex. Em relação aos resultados de dano oxidativo, na etapa de prevenção houve aumento de lipoperoxidação em todas as estruturas no grupo femproporex. Por outro lado, no grupo ômega-3 + femproporex, houve diminuição da lipoperoxidação em hipocampo, estriado e córtex cerebral em relação ao grupo femproporex. Em relação a carbonilação de proteínas, houve uma diminuição do conteúdo de proteína carbonilada no grupo ômega-3+ femproporex em relação ao grupo femproporex em todas as estruturas. A administração de ômega-3 reverteu o aumento da peroxidação lipídica no hipocampo. Adicionalmente, houve diminuição da carbonilação de proteínas em córtex pré-frontal, estriado e córtex, no grupo femproporex+ômega-3 comparado ao grupo femproporex. Os dados apresentados neste trabalho demonstram que o ômega-3 preveniu a hiperatividade causada pelo femproporex. Além disso, preveniu e reverteu o dano oxidativo a lipídeos e proteínas, causados pelo femproporex. Esses resultados sugerem que o ômega-3 pode ser pensado como um coadjuvante na terapia farmacológica do transtorno bipolar.

Palavras-chave: Transtorno bipolar; Femproporex; Ômega-3; Dano oxidativo.

ABSTRACT

Bipolar disorder is a complex psychiatric illness, incapacitating disease with high morbidity and mortality. The mania is a phase of the disorder when the patient is very euphoric and restless. Pharmacological treatment is often difficult accession. As an experimental tool for inducing mania, hydrochloride fenproporex was used, because it reproduces hyperactivity in animals. The polyunsaturated fatty acids omega-3 have beneficial properties in the central nervous system, which, among other properties, facilitating the binding of neurotransmitters to receptors. The aim of this study was to evaluate the behavioral and neurochemical effects of systemic administration of omega-3 in the brains of adult mice subjected to a model of mania by femproporex. For this experiment, adult male Wistar rats of 60 days were subjected to a treatment of 14 days, receiving omega-3 intragastrically at a dose of 0.8 g / kg body weight, and femproporex hydrochloride intraperitoneally at a dose of 12.5 mg / kg body weight. The work was divided into two stages: prevention and reversal. In step prevention animals received primarily omega-3, and from the seventh day, hydrochloride femproporex. In step reversal, animals initially received femproporex hydrochloride, and from the seventh day received omega-3. On the fourteenth day of treatment, two hours after the last administration of femproporex, animals were tested for habituation in the open, checking the locomotor and exploratory behavior. After the animals were euthanized, and the brain structures: hippocampus, striatum, pre frontal cortex and cortex were isolated for assay of oxidative damage to lipids and proteins: TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) and carbonyl respectively. As a result, the behavioral test, there was an increase in the locomotor behavior of the animals in the group femproporex, mimicking the symptoms of mania in preventing and reversing steps. The exploratory behavior was not changed. The omega-3 prevented the hyperactivity caused by femproporex. Regarding the results of oxidative damage, in the prevention stage increased lipid peroxidation in all the structures in the group femproporex. In the group omega-3 + femproporex, decreased lipid peroxidation in the hippocampus, striatum and cortex compared to group femproporex. Regarding protein carbonylation, there was a decrease the content of protein carbonyl in group omega-3 + femproporex compared to the group femproporex in all structures. The administration of omega-3 reversed the increase in the lipid peroxidation in the hippocampus. Additionally, there was a decrease in protein carbonyls in the prefrontal cortex, striatum and cortex, the group femproporex + omega-3 compared to group femproporex. The data presented in this paper show that omega-3 prevented the hyperactivity caused by femproporex. Furthermore, prevented and reversed oxidative damage to lipids and proteins, caused by femproporex. These results suggest that omega-3 can be thought of as an adjunct in the pharmacotherapy of bipolar disorder.

Keywords: Bipolar disorder; Femproporex; Omega-3; oxidative damage.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Regime de tratamento no protocolo de prevenção.	31
Figura 2- Regime de tratamento no protocolo de reversão.	32
Figura 3- Resultado: Habituação em campo aberto - Prevenção	35
Figura 4- Resultado: Habituação em campo aberto - Reversão.....	36
Figura 5- Resultado: Níveis de Carbonilação Proteica – Prevenção.....	37
Figura 6- Resultados: Níveis de Carbonilação Proteica – Reversão.....	38
Figura 7- Resultados: Níveis de TBARS - Prevenção.....	39
Figura 8- Resultados: Níveis de TBARS - Reversão.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG - Ácidos Graxos

ALA - Ácido Graxo α – Linolênico (do inglês *Alpha-linolenic acid*)

ANOVA - Análise de Variância (do inglês *Analysis of variance*)

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês *Brain-derived neurotrophic factor*)

COBEA – Colégio Brasileiro de experimentação animal

CREB – Proteína de Resposta a ligação do AMP Cíclico (do inglês *cAMP response element-binding protein*)

DHA – Ácido Decosahexanóico (do inglês *Docosahexaenoic acid*)

EPA - Ácido Eicosapentanóico (do inglês *Eicosapentaenoic acid*)

ER – Espécies reativas

GABA - Ácido Gama-Amino-butírico (do inglês *Gamma-AminoButyric Acid*)

GSH – Glutathiona

GSK3 - Glicogênio Sintase Quinase – 3 (do inglês *Glycogen synthase kinase 3*)

IL – Interleucinas

MAO – Monoamina Oxidase

MDA - Malondialdeído

NADPH oxidase – Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (do inglês *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*)

NGF - Fator de Crescimento Neural (do inglês *Nerve growth factor*)

NO – Óxido Nítrico (do inglês *Nitric oxide*)

PBS - Fosfato Salino (do inglês *Phosphate buffered saline*)

PKC - Proteína Quinase C (do inglês *Protein kinase C*)

SNC – Sistema Nervoso Central

TB – Transtorno Bipolar

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (do inglês *Thiobarbituric acid reactive substances*)

TDAH – Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade

TNF - Fator de Necrose Tumoral (do inglês *Tumor necrosis factor*)

4-HNE- 4-Hidroxinonenal

5-HT - 5-Hidroxitriptamina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Transtorno bipolar.....	12
1.1.1 Definição e epidemiologia.....	12
1.1.2 Sintomatologia.....	13
1.1.3 Estresse Oxidativo.....	15
1.1.4 Fisiopatologia.....	16
1.1.5 Terapia farmacológica.....	20
1.2 Modelo animal de mania induzido pelo femproporex.....	21
1.3 Ácidos Graxos Ômega-3.....	24
2 OBJETIVOS.....	27
2.1 Geral.....	27
2.2 Específicos.....	27
3 MATERIAL E MÉTODO.....	28
3.1 Animais experimentais.....	28
3.2 Preparo das administrações.....	28
3.3 Desenho Experimental.....	29
3.3.1 Experimento crônico de prevenção.....	30
3.3.2 Experimento crônico de reversão.....	31
3.4 Teste Comportamental: Habituação em campo aberto.....	32
3.5 Determinação de proteína carbonilada.....	33
3.6 Determinação de peroxidação lipídica (TBARS).....	33
3.7 Determinação de proteínas.....	34
3.8 Análise Estatística.....	34
4 RESULTADOS.....	35
5 DISCUSSÃO.....	41

6 PERSPECTIVAS.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXO A: Parecer de aprovação do projeto.....	66

1 INTRODUÇÃO

1.1 Transtorno bipolar

1.1.1 Definição e epidemiologia

O transtorno bipolar (TB) é um transtorno crônico e complexo, caracterizado por episódios de alternância de humor. É uma condição psiquiátrica grave, apresentando alta morbidade e alta taxa de mortalidade (Severino et al., 2013). Este transtorno afeta uma grande parcela da população mundial, incluindo crianças, adolescentes e adultos, sendo considerado um grave problema de saúde pública, que demanda elevados custos para a sociedade (Bauer e Pfenning, 2005; Soreca et al., 2009). A principal característica do TB são episódios de alternância de humor, intercalados entre depressão, eutímia e mania (Bowden, 2008). As fases são cíclicas e os pacientes bipolares vivenciam um curso natural de recidivas de sintomas frequentes (Prasko et al., 2013).

O TB costuma ser diagnosticado pela primeira vez na adolescência ou no início da idade adulta, geralmente associado a outras psicopatologias (Gitlin et al., 1995). Classifica-se como TB Tipo I a forma mais grave da doença, e o único a incluir a presença de episódios completos de mania, além das outras fases da doença. O espectro bipolar compreende as demais variações da doença: TB tipo II, Clotímia e outras variantes de TB, que envolvem oscilações de humor menos graves e por períodos menores de tempo (American Psychiatric Association, 2000; Bauer e Pfenning, 2005).

Estimativas mais recentes da prevalência de TB indicam que aproximadamente 1% da população mundial preencha os critérios diagnósticos para TB tipo I, a forma mais grave da doença. Em alguns países esta taxa é ainda maior, como no caso dos Estados Unidos da América. Em relação ao espectro bipolar, estima-se que 3 a 7 % da população mundial seja acometida (Bauer e Pfenning, 2005; Merikangas et al., 2007; Merikangas et al., 2011).

Com relação à etiologia do TB, este tem um forte componente genético. Os fatores genéticos explicam 60-85% de risco de desenvolver a doença, enquanto que os fatores ambientais parecem ter menos influência. O risco de recorrência para TB em parentes de primeiro grau de pacientes é de cerca de 9%, índice dez vezes maior do que na população em geral (Smoller e Finn, 2003; Barnett e Smoller, 2009). O início dos sintomas parece ser consequência de uma interação entre fatores genéticos e ambientais. Dentre os fatores ambientais, o relacionamento no ambiente familiar é de extrema importância. Essa interação gene/ambiente é bem demonstrada, no qual indivíduos que sofreram algum trauma na infância parecem ter a idade de início da doença antecipada e maiores taxas de suicídio (Pitchot et al., 2012).

1.1.2 Sintomatologia

Na fase depressiva do TB, o paciente tende a apresentar perda do interesse e do sentimento de prazer no desenvolvimento de atividades, a anedonia. O paciente bipolar tende a ter dificuldade de relacionamento com amigos, família e colegas de trabalho, isolando-se socialmente (Nilsson, 2012; Clements et al., 2013). O pensamento de morte frequente nesta fase muitas vezes acaba levando ao suicídio

(Kaplan e Sadock, 1999), caracterizando assim o TB como um distúrbio afetivo associado a um maior risco de suicídio (Angst et al., 2002; Gonda et al., 2012). Episódios depressivos costumam ser mais longos do que a média de episódios maníacos, mesmo na vigência de tratamento (Kalin, 1996; Kimura et al., 2013). A fase eutímica é definida como a remissão dos sintomas, período no qual o paciente está sem sintomas e reintegrado funcionalmente em suas atividades de rotina (Fagiolini et al., 2003). Na fase hipomaníaca, o paciente começa a apresentar sintomas eufóricos acentuados, diminuição da necessidade de sono, inquietação e leve irritabilidade (Bowden, 2008).

No episódio maníaco ocorre uma elevação do humor, deixando o paciente extremamente agitado, expansivo e irritável. Autoconfiança é a principal característica desta fase. Pacientes geralmente apresentam autoestima grandiosa, aumento da atividade motora, grande vigor físico acompanhado de diminuição da necessidade de sono, energia abundante e facilidade em se distrair. São mais propensos a enfrentar tarefas difíceis e têm dificuldade de reconhecer situações de perigo. Muitas vezes há o envolvimento excessivo em atividades prazerosas como o envolvimento em surtos incontidos de compras, além de grande estímulo sexual. Esta fase pode estar diretamente relacionada a sintomas psicóticos (Johnson et al., 2000; Bourin e Thibaut, 2013).

Grande parte dos pacientes apresenta comorbidades associadas ao TB (Evans e Charney, 2003; McIntyre et al., 2007). Pacientes bipolares parecem ter um ritmo circadiano mais instável e maior sensibilidade a alguns tipos de dores crônicas, dores de cabeça e dores psicogênicas (Jones et al., 2005; Birgenheir et al., 2013). Transtorno de ansiedade e transtorno obsessivo compulsivo são frequentemente associados ao TB (Gorwood, 2004). A comorbidade com transtornos de

personalidade está associada a um curso mais difícil do TB, com maiores traços de agressividade e ideação suicida (Faraone et al., 2003; Latalova et al., 2013; Wessa et al., 2013).

1.1.3 Estresse oxidativo

Pode-se definir um radical livre como uma espécie química altamente reativa, contendo um ou mais elétrons desemparelhados. Utiliza-se o termo espécies reativas (ER) para designar espécies radicalares e não radicalares, que sejam agentes oxidantes ou prontamente convertidas em radicais (Halliwell e Gutteridge, 2007a). O radical ânion superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são produtos cruciais na formação de outras ER. Nas células o O_2^- é formado principalmente pela ação de complexos da cadeia respiratória mitocondrial, por lipoxigenases e ciclooxigenases após a ativação de citocinas, pela xantina oxidase e NADPH oxidase. O ânion O_2^- pode reagir com o óxido nítrico (NO), gerando o radical peroxinitrito ($ONOO^-$) que é extremamente deletério, ou ainda pode ser convertido em H_2O_2 , que, na presença de íons como o cobre ou ferro, origina o radical hidroxila (OH^-) com elevada toxicidade (Veronesi et al., 2002).

Devido à alta reatividade, as ER atacam moléculas como lipídeos, proteínas e DNA. O tecido cerebral é altamente suscetível ao dano oxidativo, visto que possui alta taxa de consumo de oxigênio e baixos níveis de defesas antioxidantes (Dávila et al., 2008). Os radicais livres são formados normalmente no metabolismo celular. As defesas antioxidantes, enzimáticas e não enzimáticas, atuam contra a toxicidade dessas espécies e são responsáveis pela manutenção da homeostase entre a produção e a eliminação de radicais livres. No entanto, em determinadas condições

patológicas pode haver um desequilíbrio entre a produção de ER e as defesas antioxidantes, favorecendo a ocorrência do estresse oxidativo (Nowak, 2013).

Denomina-se peroxidação lipídica o processo através do qual as ER reagem com os ácidos graxos (AG) poli-insaturados dos fosfolipídeos das membranas. A peroxidação lipídica é uma reação de auto-propagação, deste modo, a oxidação inicial de algumas moléculas de lipídeos pode causar um dano significativo no tecido. Os efeitos gerais da peroxidação lipídica incluem: diminuição da fluidez da membrana; danos a proteínas; inativação de receptores, enzimas e canais iônicos; além do aumento da permeabilidade da membrana a substâncias que fisiologicamente não atravessariam. A destruição de lipídeos de membrana forma produtos que são especialmente tóxicos para as células, como o malondialdeído (MDA) e o 4-hidroxinonenal (4-HNE) (Halliwell e Gutteridge, 1984; Mylonas e Kouretas, 1999).

O dano oxidativo a proteínas dá origem a grupos carbonila. Proteínas carboniladas são geralmente menos ativas e menos termoestáveis. O aumento do nível de proteínas carbonil pode ocasionar efeitos deletérios sobre funções orgânicas, visto que promovem mudanças conformacionais na estrutura proteica e causam perda de função catalítica nas proteínas afetadas (Stadtman e Levine, 2003; Baraibar et al., 2012).

1.1.4 Fisiopatologia

A fisiopatologia do TB ainda não está elucidada totalmente, mas uma gama de evidências sugere uma interação complexa entre os genes de suscetibilidade, estressores ambientais e mecanismos bioquímicos (Barbosa et al., 2013).

O dano oxidativo parece contribuir em parte para a fisiopatologia do TB (Steckert et al., 2010). Estudos têm demonstrado um aumento do dano oxidativo a biomoléculas e alterações em enzimas antioxidantes em pacientes com TB (Kuloglu et al., 2002; Ross et al., 2011). Demonstra-se um aumento da peroxidação lipídica em pacientes bipolares (Andreazza et al., 2008; Wang et al., 2009) especialmente na fase maníaca (Kunz et al., 2008). Che et al. (2010) demonstraram dano oxidativo em subregiões do hipocampo de pacientes bipolares. Além disso, pacientes bipolares apresentaram níveis significativamente diminuídos de glutathione (GSH), a principal defesa antioxidante não enzimática do organismo (Gawryluk et al., 2011). Utilizada como modelo animal de mania, a administração de metaanfetamina induziu estresse oxidativo, e essa condição foi prevenida e revertida pelos estabilizadores de humor carbonato de lítio e valproato de sódio, reforçando evidências de que o estresse oxidativo esteja ligado à fisiopatologia do TB (Frey et al., 2006a).

Alterações nos circuitos cerebrais associados à regulação do humor estão envolvidas no TB, principalmente quanto à neurotransmissão (Balanzá-Martínez et al., 2011). A serotonina modula atividades neuronais regulando processos funcionais como o controle de impulsos, a agressividade e tendência suicida. Logo, uma deficiência na sua neurotransmissão configura tanto estados maníacos quanto depressivos, uma vez que a diminuição na liberação e atividade da serotonina pode levar ao suicídio (Shiah e Yatham, 2000; Rezin et al., 2008; Hammer et al., 2012). Sugere-se que mutações no gene do receptor da serotonina 5-HT possam estar associadas ao TB (Kishi et al., 2013).

A dopamina está envolvida diretamente com a neurobiologia do TB, principalmente na fase maníaca. O aumento da liberação de dopamina, a redução da capacidade de armazenamento da vesícula sináptica ou a elevada sensibilidade

do receptor dopaminérgico são responsáveis por sintomas maníacos. Uma redução nesta atividade está relacionada com sintomas depressivos (Avisar et al., 1988; Ackenheil, 2001). A dopamina tem papel crucial no controle motor, endócrino e principalmente em aspectos comportamentais (Salomone et al., 1997; Knutson et al., 2001). Alterações em DAT, gene que codifica o transportador de dopamina, foram encontradas em necrópsias de pacientes bipolares, sugerindo um papel deste neurotransmissor na fisiopatologia do TB (Pinsonneault et al., 2011).

A noradrenalina é outro neurotransmissor possivelmente envolvido na fisiopatologia do TB (Kapczinski et al., 2004). Ela é fundamental na regulação do estado de vigília e alerta em seres humanos. É também responsável pelo controle da pressão arterial e regulação do humor. Sugere-se que uma menor sensibilidade dos receptores noradrenérgicos contribua para o estado depressivo. Deste modo, uma função noradrenérgica aumentada pode estar envolvida na gênese da mania (Bielau et al., 2012).

O ácido gama-amino-butírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório no SNC de mamíferos. A disfunção de GABA parece levar a estados maníacos e depressivos, visto que pacientes bipolares apresentam níveis plasmáticos de GABA alterados, sugerindo uma possível associação da diminuição da inibição de GABA à fisiopatologia do TB (Rajkowska, 2002; Kapczinski et al., 2004).

O sistema glutamatérgico, responsável pela neurotransmissão excitatória do SNC, apresenta-se associado ao TB, uma vez que alguns estabilizadores de humor atuam nesta via (Kapczinski et al., 2004). O óxido nítrico (NO) é um importante mensageiro na sinalização do SNC e influencia a neurotransmissão glutamatérgica e monoaminérgica. Pacientes bipolares apresentam níveis de NO reduzidos no SNC.

Sugere-se que esta alteração seja resultado de uma compensação para o aumento da atividade glutamatérgica (Bielau et al., 2012).

Estudos de neuroimagem em pacientes bipolares fornecem evidências de alterações do metabolismo da glicose e diminuição do fluxo sanguíneo em regiões corticais e subcorticais, bem como redução da integridade de feixes de fibras que ligam estas estruturas (Stoll et al., 2001; Wessa et al., 2013).

Sugere-se que alterações em sistemas de sinalização intracelular associados à plasticidade e sobrevivência neuronal também estejam envolvidos no TB (Bowden, 2008; Balanzá-Martínez et al., 2011). A GSK-3 (Glicogênio Sintase Quinase 3) e a PKC (Proteína Quinase C) são proteínas de papel fundamental na sinalização celular e que parecem estar envolvidas na gênese do TB (Hahn et al., 2005; Luykx et al., 2010).

Sugere-se que a modulação dos níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), seja um dos principais mecanismos envolvidos na fisiopatologia do TB. O BDNF é uma neurotrofina envolvida na neuroproteção, arborização dendrítica, plasticidade sináptica e neurodesenvolvimento (Post, 2007). Parece exercer papel na regulação do humor, principalmente em relação a sintomas depressivos (Castren e Rantamaki, 2010). Huang et al. (2012) demonstraram que pacientes com episódios maníacos recorrentes tiveram os níveis protéicos de tropomiosina quinase B (TrkB) - receptor de BDNF - mais elevados, sugerindo que este receptor exerça um papel importante na fisiopatologia do TB.

Adicionalmente, pacientes bipolares apresentam níveis elevados de marcadores pró-inflamatórios; tais como TNF α , IL-1 e IL-6, com consequente ativação de caspases e do processo de morte celular por apoptose. Elevados níveis sanguíneos de IL-1 são observados durante a fase maníaca, demonstrando um

possível papel do processo inflamatório neste transtorno (Berk et al., 2011; Tsai et al., 2012).

Evidências apontam a correlação direta entre o TB e disfunção mitocondrial, sugerindo que pacientes bipolares apresentem alterações na morfologia e mutações em proteínas envolvidas na respiração mitocondrial (Clay et al., 2011; Gigante et al., 2011). A disfunção mitocondrial produz mais ER, e conseqüente oxidação de biomoléculas. Desta forma, pode-se observar que inúmeros mecanismos contribuem para a fisiopatologia do TB (Berk et al., 2011).

1.1.5 Terapia farmacológica

Atualmente a terapia farmacológica do TB consiste principalmente no uso de estabilizadores de humor, como o carbonato de lítio. O lítio é estabelecido como um tratamento parcialmente eficaz nas fases de mania aguda do TB e também na depressão unipolar. Entretanto seu mecanismo de ação não está totalmente elucidado. Sugere-se que ele atue alterando o transporte do sódio nos neurônios e células musculares, estabilizando a neurotransmissão. Além disso, evidências indicam um papel neuroprotetor deste fármaco (Manji e Duman, 2001; Tsaltas et al., 2009; Ghanizadeh e Berk, 2013).

Na terapia do TB, o lítio pode ser associado a fármacos anticonvulsivantes como o valproato de sódio e carbamazepina. O valproato de sódio é muito utilizado em pacientes resistentes ao tratamento com lítio. Novas opções terapêuticas, como a lamotrigina, e antipsicóticos atípicos como a olanzapina, quetiapina, risperidona, aripiprazol e assenapina também vêm sendo utilizados. Embora sejam variadas as opções terapêuticas atuais, mais de 70 % dos pacientes apresentam recidivas,

mesmo na vigência do tratamento (Price e Marzani-Nissen, 2012; Walpoth-Niederwanger et al., 2012; Bourin e Thibaut, 2013). Grande parte dos pacientes tratados demonstra incapacidade funcional e um grande número de comorbidades (Zarate et al., 2006; Nierenberg et al., 2012).

Os efeitos colaterais dos medicamentos utilizados - que parecem ser mais perceptíveis em pacientes jovens - contribuem para que uma grande parcela dos pacientes não consiga aderir ao tratamento (Leclerc et al., 2013). Estabilizadores de humor, por exemplo, podem exercer efeitos teratogênicos em mulheres em idade fértil (Price e Marzani-Nissen, 2012).

Considerando-se a eficácia variável dos medicamentos já consolidados na terapia do TB, somada à baixa adesão de grande parte dos pacientes ao tratamento, torna-se imprescindível o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para este distúrbio (Shaltiel et al., 2007; Severino et al., 2013).

1.2 Modelo animal de mania induzido pelo femproporex

Um modelo animal em transtornos psiquiátricos, para ser válido, deve ser hábil para reproduzir aspectos fisiopatológicos, mimetizar os sintomas da doença, e demonstrar reversão de tais sintomas através de alternativas terapêuticas consolidadas (Ellenbroek e Cools, 1990). O modelo animal de mania induzido por psicoestimulantes é muito utilizado atualmente, visto que reproduz de modo satisfatório os sintomas característicos desta fase do TB (Frey et al., 2006a; Frey et al., 2006b; Valvassori et al., 2008; Nestler e Hyman, 2010). Os principais efeitos dos psicoestimulantes incluem euforia, aumento das atividades motoras, diminuição da necessidade de sono e da sensação de fadiga, além do aumento da frequência

respiratória (Brunton e Parker, 2010). Neste contexto, psicoestimulantes induzem sintomas maníacos em pacientes com TB, bem como em voluntários saudáveis (Joyce et al., 1995; Anand et al., 2000). Estes sintomas parecem estar relacionados principalmente à hiperatividade dopaminérgica (Park e Kang, 2013).

O cloridrato de femproporex (DCB Nº 03849) é um fármaco psicoestimulante, sintetizado a partir de modificações na estrutura química da anfetamina (α -metil- β -fenetilamina), produzindo derivados b-fenetilamínicos com influência na neurotransmissão. Quando ingerido, é rapidamente convertido a anfetamina e metaanfetamina no organismo, assim o seu efeito torna-se semelhante ao da anfetamina, incluindo estimulação do SNC, onde age diretamente na vesícula pré-sináptica aumentando a liberação de dopamina e noradrenalina, e bloqueando a recaptação de dopamina, elevando os níveis destes neurotransmissores na fenda sináptica (Coutts et al., 1986; Brunton e Parker, 2010). A redução da ingestão de alimentos causada pelo femproporex ocorre por alteração no controle químico da transmissão do impulso nervoso. No caso da dopamina, sabe-se que ela desempenha funções anorexígenas em regiões específicas do SNC, como no caso do núcleo accumbens. A neurotransmissão noradrenérgica elevada também é responsável pelo efeito anorexígeno deste fármaco (Mattei e Carlini, 1996; Brunton e Parker, 2010).

Devido à sua ação anorexígena o femproporex foi utilizado como adjuvante no tratamento da obesidade até 2011 no Brasil. Atualmente não pode mais ser comercializado. A proibição, determinada pela Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), entrou em vigor no Brasil em dezembro de 2011, e consta sob a Resolução RDC 52/2011. Nesta RDC, fica instituído que além do femproporex, mazindol e anfepramona também não podem mais ser

produzidos, comercializados e manipulados. Em nota técnica sobre a eficácia e segurança dos medicamentos inibidores do apetite a ANVISA alegou que, por serem estimulantes do SNC, os medicamentos tipo anfetamínicos eram comumente desviados de seu uso clínico. Desta forma, foram reavaliados por estudos sobre eficácia e segurança, e apresentaram vários efeitos adversos graves que dificultavam seu uso clínico (ANVISA, 2011).

Neste contexto, estudos do laboratório de bioenergética desta universidade vêm investigando efeitos do femproporex em animais. Gonçalves et al. (2013) demonstraram que a administração de femproporex aumentou índices de dano ao DNA em ratos jovens e adultos. Em outro estudo, o femproporex inibiu a atividade da enzima acetilcolinesterase em cérebro de ratos (Rezin et al., 2012). Demonstrou-se também que a administração aguda e crônica de femproporex alterou alguns parâmetros do metabolismo energético de animais, sugerindo uma disfunção mitocondrial induzida por este fármaco (Rezin et al., 2011).

Em estudo de Moreira et al. (2005) ratas grávidas foram tratadas com femproporex e seus filhotes apresentaram-se mais ativos e agitados em testes comportamentais. Mattei e Carlini (1996) demonstraram que a administração de femproporex induziu o comportamento estereotipado e locomotor de machos e fêmeas. Em estudo anterior do laboratório de bioenergética desta universidade, a administração aguda e crônica de femproporex também aumentou o comportamento locomotor e exploratório de ratos adultos, sugerindo seu uso como ferramenta para indução de mania (Dados não publicados).

1.3 Ácidos graxos ômega-3

Ácidos graxos (AG) são cadeias de carbono, usualmente de 12 a 24, que apresentam um radical alfa (ácido carboxílico) e um ômega (metila). Os AG poli-insaturados ômega-3 e ômega-6 são termos que se referem a um conjunto de lipídeos que apresentam a primeira insaturação nas posições 3 ou 6 das cadeias de carbono, a partir do ômega, respectivamente (Wall et al., 2010). Ômega-3 está presente em vegetais como a linhaça, canola e soja; e principalmente em peixes e frutos do mar. São imprescindíveis no metabolismo de mamíferos e devem ser ingeridos na dieta, pois não podem ser sintetizados no organismo. AG ômega-3 competem com AG ômega-6 pela enzima 6Δ dessaturase, chave metabólica clássica, que apresenta maior afinidade pelos substratos altamente insaturados. Logo, um ácido graxo pode interferir no metabolismo do outro, apresentando implicações nutricionais. De um modo geral, AG ômega-3 parecem exercer efeitos antiinflamatórios, ao passo que os AG ômega-6 são responsáveis por mecanismos pró-inflamatórios. Desta forma é necessário um equilíbrio da ingestão entre ômega-3 e ômega-6 (Infante e Huszagh, 1997; Koletzko et al., 2009; Baker et al., 2012).

O ácido graxo α -linolênico (ALA) é o precursor da síntese dos AG ômega-3. Ele precisa da ação das enzimas 6Δ dessaturase e 5Δ dessaturase para ser convertido a ácido eicosapentanoico (EPA). EPA é um intermediário, que necessita de alongamento e oxidação para ser convertido ao produto biologicamente ativo mais importante, o ácido decosahexanoico (DHA) (Infante e Huszagh, 1997; Fekete e Decsi, 2010). O metabolismo dos AG ômega-3 ocorre no retículo endoplasmático, com exceção da ω -oxidação, que ocorre em peroxissomas (Nowak, 2013). A taxa de conversão de ALA em DHA é extremamente baixa em humanos, sendo estimada

em aproximadamente 6%. É ideal que estes AG sejam obtidos a partir da dieta ou de suplementos, como cápsulas de óleo de peixe (Van de Rest et al., 2012). O fígado é o tecido mais ativo nessa tarefa de conversão, e exerce um papel fundamental no fornecimento de DHA para o cérebro e outros tecidos (Bezard et al., 1994; Emken et al., 1994).

A capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica é uma importante propriedade destes AG (Guest et al., 2013). DHA e EPA estão concentrados no SNC, na retina, coração e músculo esquelético (Chalon et al., 1998; Fekete e Decsi, 2010). O DHA parece aumentar a fluidez, flexibilidade e permeabilidade das membranas celulares. Além disso, atua como um facilitador da ligação de neurotransmissores, hormônios, fatores de crescimento e proteínas com seus receptores, sendo fundamental para a transmissão do impulso nervoso, diferenciação e sobrevivência neuronal (Wu et al., 2008; Kim et al., 2010). Também parece ser um facilitador de vias de transdução de sinal (Wood, 1990).

AG ômega-3 parecem de modular receptores acoplados a proteína G, bem como a atividade da enzima fosfolipase, exercendo potentes efeitos anti-inflamatórios (Oh DY et al., 2010; Smesny et al., 2013). Em relação aos efeitos metabólicos, destaca-se a sensibilização à insulina (Oh DY et al., 2010), a diminuição dos níveis de triglicerídeos (McKenney e Sica, 2007; Skulas-Ray et al., 2011) e prevenção de doenças cardiovasculares (Radosinska et al., 2013).

Estudos recentes demonstram os efeitos benéficos da suplementação de AG ômega-3 em diversos distúrbios neurológicos e psiquiátricos. Na esquizofrenia parece ser eficaz em prevenir surtos psicóticos (Amminger et al., 2010; Mossaheb et al., 2013). Demonstra ainda importante papel na prevenção da doença de Alzheimer e acidente vascular cerebral (Siegel e Ermilov, 2012). Em pacientes com depressão

maior, contribui para uma melhora dos sintomas, além da potencialização farmacológica de antidepressivos (Gertsik et al., 2012; Krawczyk e Rybakowski, 2012).

Neste contexto, estudos demonstram que populações com carência nutricional de AG ômega-3 parecem ter uma maior propensão ao TB. Noaghiul e Hibbeln (2003) demonstraram maior prevalência de TB em populações deficientes de peixes e frutos do mar. McNamara et al. (2010) encontraram níveis reduzidos de DHA em eritrócitos de pacientes bipolares, em comparação com pacientes saudáveis.

Uma importante propriedade dos AG ômega-3 no SNC parece ser a proteção da membrana lipídica frente ao ataque das espécies reativas (Wall et al., 2010; Nowak, 2013). Estes efeitos antioxidantes são observados em condições variadas, que vão desde distúrbios metabólicos - como no caso da diabetes tipo 2 (Hajianfar et al., 2013) - até distúrbios psiquiátricos como esquizofrenia (Mahadik et al., 2006). A suplementação com AG ômega-3 parece promover uma diminuição significativa do nível de peroxidação lipídica (Kesavulu et al., 2002). Assim, compostos com propriedades antioxidantes podem ser extramamente benéficos no SNC, considerando o papel do estresse oxidativo nos mecanismos fisiopatológicos do TB (Steckert et al., 2010).

Considerando a necessidade de novas opções terapêuticas para o TB, somados ao alto dano oxidativo presente neste distúrbio e ao papel crucial do ômega-3 no SNC, este estudo propõe avaliar os efeitos comportamentais e neuroquímicos do ômega-3 em ratos submetidos a um modelo de mania pelo femproporex.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos neuroquímicos e comportamentais da administração crônica de ômega-3 em ratos adultos submetidos a um modelo de mania pelo femproporex.

2.2. Específicos

- Avaliar o comportamento locomotor e exploratório de ratos adultos submetidos a um modelo de mania pelo femproporex através do teste de habituação ao campo aberto.
- Avaliar o papel preventivo e reversivo do ômega-3 no comportamento locomotor e exploratório de ratos adultos submetidos a um modelo de mania pelo femproporex.
- Avaliar o efeito da administração preventiva e reversiva do ômega-3 em relação a dano oxidativo a proteínas em hipocampo, córtex pré-frontal, estriado e córtex cerebral de ratos submetidos a modelo de mania pelo femproporex.
- Avaliar o efeito da administração preventiva e reversiva do ômega-3 sobre o dano oxidativo a lipídeos em hipocampo, córtex pré-frontal, estriado e córtex de cerebral ratos submetidos a modelo de mania pelo femproporex.

3 MÉTODO

Todos os experimentos foram realizados na Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC – no Laboratório de Bioenergética e no Laboratório de Neurociências. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório (*Principles of Laboratory Animal Care*, Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América, NIH, publicação número 85-23, revisada em 1996), além das recomendações para o uso de animais do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). A utilização dos animais seguiu um protocolo experimental aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Extremo Sul Catarinense sob o protocolo número 039/2013.

3.1 Animais Experimentais

Foram utilizados 120 ratos machos da linhagem Wistar, com 60 dias de vida, pesando entre 300-350 g, provenientes do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram acondicionados em grupos de cinco animais por caixa, em um ciclo claro-escuro de 12 horas (luzes acesas às 7h), a uma temperatura de 22 ± 1 °C, com livre acesso a água e comida.

3.2 Preparo das administrações

O cloridrato de femproporex utilizado no experimento era comercializado no Brasil até 2011, com o nome comercial de Desobesi-M[®] do laboratório Aché. O

medicamento foi adquirido antes da proibição de sua utilização. Cada cápsula de Desobesi-M[®] continha 25 mg de cloridrato de femproporex. As cápsulas foram moídas em um gral de porcelana com auxílio de pistilo e diluídas em Tween 2% (diluído previamente em água destilada), em volume proporcional à dose de femproporex.

O ômega-3 utilizado no experimento é comercializado em cápsulas gelatinosas pelo nome de Ômega-3 Óleo de peixe[®], do laboratório Mercofarma. Cada porção de 4,7 g (3 cápsulas) contém 0,5 g de EPA e 0,4 g de DHA. O ômega-3 foi retirado das cápsulas com auxílio de agulha de seringa de 5 mL.

3.3 Desenho experimental

O experimento foi dividido em duas etapas, prevenção e reversão. Os animais foram divididos em 4 grupos, cada grupo composto por 15 animais. Desta forma utilizamos um *n* mínimo necessário para realização de testes comportamentais. Sendo assim, utilizamos 60 animais para cada etapa, e 120 animais no total.

Os animais foram submetidos à administração de:

- Salina 0,9 % via intragástrica, com auxílio de agulha de gavagem. O volume foi proporcional ao de ômega-3 administrado;
- Solvente tween a 2 % via intraperitoneal. O volume foi proporcional ao de femproporex administrado;
- Ômega-3 na dose de 0,8 g /kg peso corporal (Ozyurt et al., 2007) via intragástrica com auxílio de agulha de gavagem;

- Cloridrato de femproporex na dose de 12,5 mg/kg peso corporal via intraperitoneal. Esta dose foi utilizada anteriormente em estudo do laboratório de bioenergética desta universidade (dados não publicados).

3.3.1 Experimento crônico de prevenção

Os animais foram divididos em grupo controle, grupo ômega-3, grupo femproporex e grupo ômega-3 + femproporex (Figura 1).

- O grupo controle recebeu salina + Tween durante 14 dias;
- O grupo ômega-3 + Tween recebeu ômega-3 do primeiro ao décimo quarto dia de tratamento, e, a partir do oitavo dia os animais receberam também Tween, estendendo-se até o décimo quarto dia de tratamento;
- O grupo salina + femproporex recebeu salina do primeiro ao décimo quarto dia de tratamento, e, a partir do oitavo dia, os animais receberam também femproporex, estendendo-se até o décimo quarto dia de tratamento;
- O grupo ômega-3 + femproporex recebeu ômega-3 do primeiro ao décimo quarto dia de tratamento, e a partir do oitavo dia os animais receberam também cloridrato de femproporex, estendendo-se até o décimo quarto dia de tratamento.

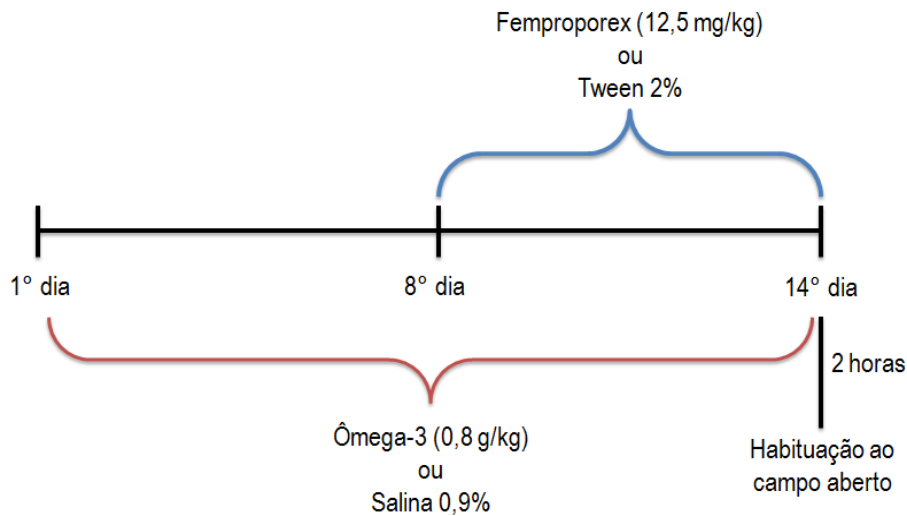


Figura 1. Regime de tratamento no protocolo de prevenção.

3.3.2 Experimento crônico de reversão

Os animais foram divididos em grupo controle, grupo ômega-3, grupo femproporex e grupo femproporex+ômega-3.

- O grupo controle recebeu Tween +salina durante 14 dias;
- O grupo ômega-3 + Tween recebeu Tween do primeiro ao décimo quarto dia de tratamento, e a partir do oitavo dia foi introduzida à administração de ômega-3 estendendo-se até o décimo quarto dia de tratamento;
- O grupo salina + femproporex recebeu cloridrato de femproporex do primeiro ao décimo quarto dia de tratamento, e a partir do oitavo dia foi introduzida a administração de salina até o décimo quarto dia de tratamento;
- O grupo femproporex + ômega-3 recebeu cloridrato de femproporex do primeiro ao décimo quarto dia de tratamento, e a partir do oitavo dia foi

introduzida à administração de ômega-3 até o décimo quarto dia de tratamento.

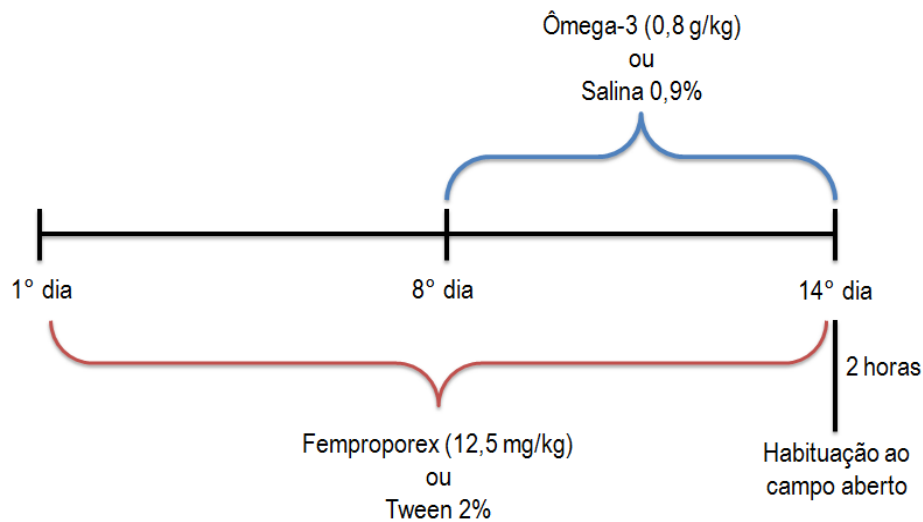


Figura 2. Regime de tratamento no protocolo de reversão.

3.4 Teste comportamental: Habituação ao campo aberto

Duas horas após a última administração de femproporex em ambos os protocolos (prevenção e reversão) os animais foram submetidos ao teste de habituação ao campo aberto. A atividade locomotora e exploratória foi executada em uma caixa de 40 x 60 cm, cercada por paredes de 50 cm de altura, feitas de madeira compensada, com uma parede de vidro frontal e assoalho dividido em 12 retângulos iguais por linhas pretas. Os animais foram colocados delicadamente no quadrante posterior esquerdo, ficando livres para que explorassem a arena por 5 minutos, onde foram contados os cruzamentos entre as linhas pretas ou “*crossings*” (atividade locomotora atividade horizontal) e a quantidade de vezes em que o animal levantou-se a fim de explorar o ambiente ou “*rearings*” (atividade exploratória/atividade vertical) (Barros et al., 2002; Frey et al., 2006a).

Posteriormente, os animais foram mortos por decapitação e o cérebro foi removido. O córtex pré-frontal, hipocampo, estriado e córtex cerebral foram rapidamente isolados e homogeneizados em tampões específicos para cada técnica. O homogeneizado obtido foi levado à centrifugação por rotação e tempo segundo protocolos específicos das técnicas utilizadas. O sobrenadante obtido foi separado e armazenado a - 80°C para as dosagens de dano oxidativo, e dosados dentro de um período máximo de 30 dias.

3.5 Determinação de Proteína Carbonilada

O dano oxidativo em proteínas foi determinado pela medida de grupos carbonil conforme descrito por Levine et al. (1994). Brevemente, as amostras obtidas foram precipitadas pela adição de ácido clorídrico (HCl, Vetec[®]) e as proteínas dissolvidas com 2,4 - dinitrofenilidrazina (DNPH, Sigma-Aldrich[®]). Os grupamentos carbonila formados pela reação (base de Schiff) foram medidos em espectrofotômetro pela absorvância em 370 nm. Os resultados foram expressos por grupamentos carbonila por miligrama de proteína.

3.6 Determinação de Peroxidação Lipídica (TBARS)

As amostras foram homogeneizadas em tampão PBS gelado (pH 7,4) até obtenção de um homogeneizado de hipocampo, córtex pré-frontal, estriado e córtex cerebral. O homogeneizado foi precipitado por meio de uma reação ácida, com ácido tricloroacético (TCA, Vetec[®]) a 12% e agitado vigorosamente durante cerca de 5 segundos. Em seguida, foi incubado em tampão Tris-HCl 60 mM, pH 7,4 (0,1 mM DTPA), Sigma-Aldrich[®] e ácido tiobarbitúrico (TBA, Sigma-Aldrich[®]) 0,73% durante

60 min a 100°C. Após, o material foi resfriado durante 15 min a 5°C, centrifugado (5 min a 5000 r.p.m) e a absorvância do cromóforo de cor rósea foi medida em 535nm, sendo os valores expressos em malondialdeído (MDA) por miligrama de proteína (nmol.g^{-1}). A avaliação da peroxidação lipídica endógena foi realizada em triplicata, com mono feixe, através da detecção por absorvância dos derivados de seus produtos de oxidação, através de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico, destacando-se o malondialdeido, produzindo uma base de Shiff (Bird e Draper, 1984).

3.7 Determinação de Proteínas

O método de determinação de proteínas totais utilizado foi o proposto por Lowry et al. (1951). O princípio do método baseia-se numa mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico, (reagente Folin-Ciocalteau, Fator 1[®]), que sofre uma redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador cobre (II), produzindo um composto com absorção máxima em 750 nm.

3.8 Análise Estatística

Todos os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada pela análise de variância de uma-via (para parâmetros de dano oxidativo) e duas vias (para parâmetro comportamental) (ANOVA). Quando o valor de *F* foi significativo, comparações *post hoc* foram feitas pelo teste de Tukey, utilizando-se o programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Em todas as análises, o valor de *p* foi considerado significativo quando menor do que 0,05.

4 RESULTADOS

No teste comportamental de habituação ao campo aberto do protocolo de prevenção, houve diminuição do número de cruzamentos no grupo ômega-3. Ocorreu ainda aumento do número de cruzamentos no grupo femproporex, confirmando a indução de comportamento maníaco neste grupo. Nenhum efeito significativo foi observado no grupo ômega-3 + femproporex em relação à locomoção quando comparado ao grupo controle, demonstrando que neste grupo não houve a indução de comportamento maníaco e sugerindo que a administração de ômega-3 tenha prevenido este efeito. Nenhum efeito foi avaliado em relação à exploração.

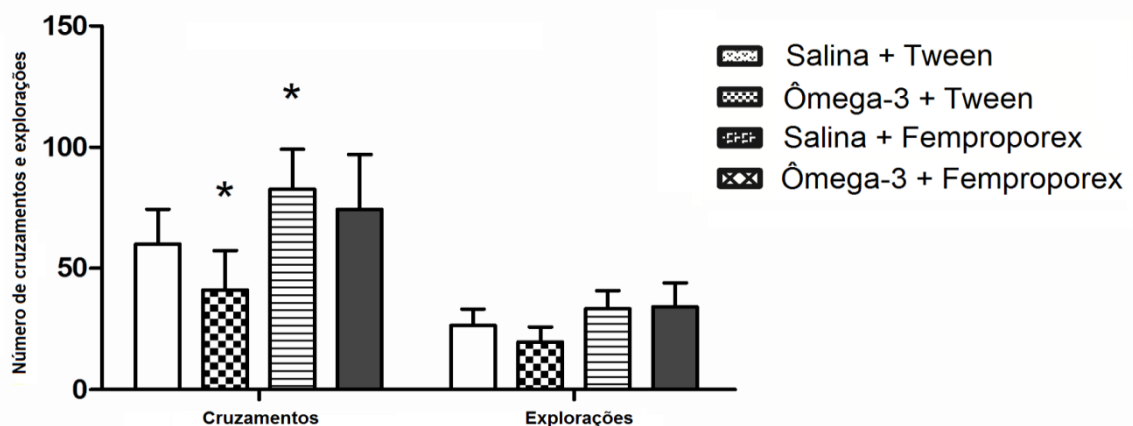


Figura 3. Efeitos do ômega-3 sobre parâmetros comportamentais de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex. Número de cruzamentos e exploração no protocolo de prevenção. Os animais foram avaliados durante 5 minutos a tarefa de campo aberto. Valores expressos como média +/- desvio padrão. Dados foram avaliados por análise de duas-vias ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F foi significativo. *Diferente do grupo controle; $p < 0,05$.

No protocolo de reversão, houve aumento do número de cruzamentos no grupo femproporex e no grupo femproporex + ômega-3, confirmando a indução de

comportamento maníaco nos dois grupos. Nenhum efeito foi avaliado em relação à exploração.

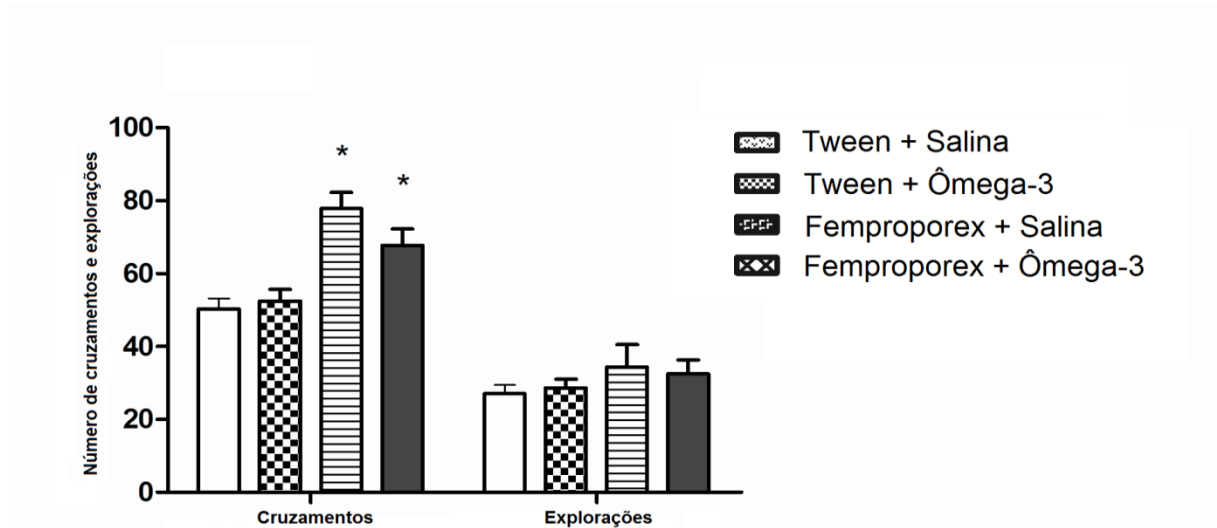


Figura 4: Efeitos do ômega-3 sobre parâmetros comportamentais de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex. Número de cruzamentos e exploração no protocolo de reversão. Os animais foram avaliados durante 5 minutos a tarefa de campo aberto. Valores expressos como média +/- desvio padrão. Dados foram avaliados por análise de duas-vias ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F foi significativo. *Diferente do grupo controle; $p < 0,05$.

Em relação aos parâmetros de dano oxidativo, no protocolo de prevenção houve um aumento na carbonilação de proteínas no grupo salina+femproporex apenas no córtex cerebral, e administração de ômega-3 preveniu tal aumento. Além disso, a administração isolada de ômega-3 reduziu os níveis de proteínas carboniladas em córtex pré-frontal. Por outro lado, a administração de ômega-3 + femproporex também causou uma redução na carbonilação de proteínas em córtex, hipocampo e estriado.

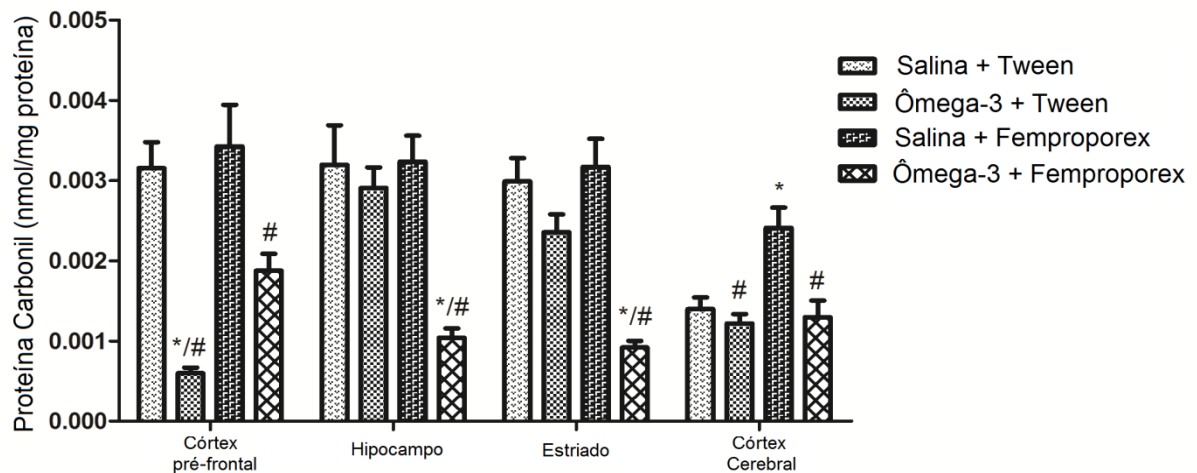


Figura 5. Efeitos do ômega-3 sobre os níveis de formação de proteína carbonil em cérebro de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex no protocolo de prevenção. Valores expressos como média +/- desvio padrão. Dados foram avaliados por análise de uma- via ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F for significativo. *Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo femproporex; $p < 0,05$.

No protocolo de reversão, no grupo femproporex + salina houve aumento do conteúdo de grupamentos carbonil em relação ao grupo controle, em córtex pré-frontal e córtex cerebral, e a administração de ômega-3 reverteu tal dano. Além disso, a administração isolada de ômega-3 reduziu os níveis de proteínas carboniladas no córtex cerebral. Por outro lado, a administração de femproporex+ômega-3 também causou uma redução na carbonilação de proteínas no estriado.

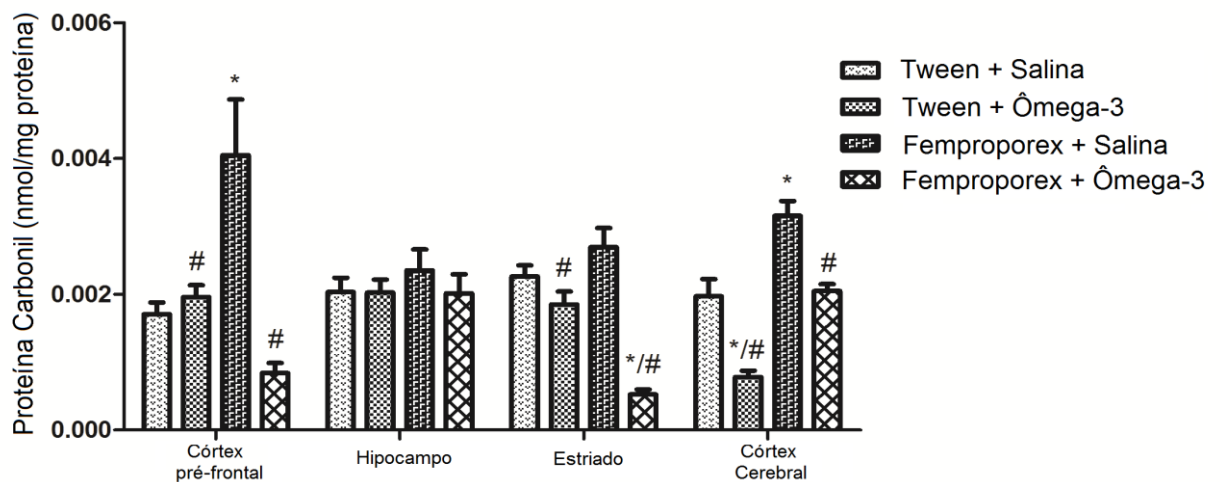


Figura 6. Efeitos do ômega-3 sobre os níveis de formação de proteína carbonil em cérebro de animias submetidos ao modelo de mania por femproporex no protocolo de reversão. Valores expressos como média +/- desvio padrão. Dados foram avaliados por análise de uma-via ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F foi significativo. *Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo femproporex; $p < 0,05$.

Em relação aos níveis de TBARS, no protocolo de prevenção houve aumento de TBARS no grupo salina+femproporex em todas as estruturas, e a administração de ômega-3 preveniu esse dano em hipocampo, estriado e córtex cerebral. A administração isolada de ômega-3 reduziu os níveis de TBARS em estriado. No grupo ômega-3+femproporex não houve alteração na formação de TBARS em relação ao controle.

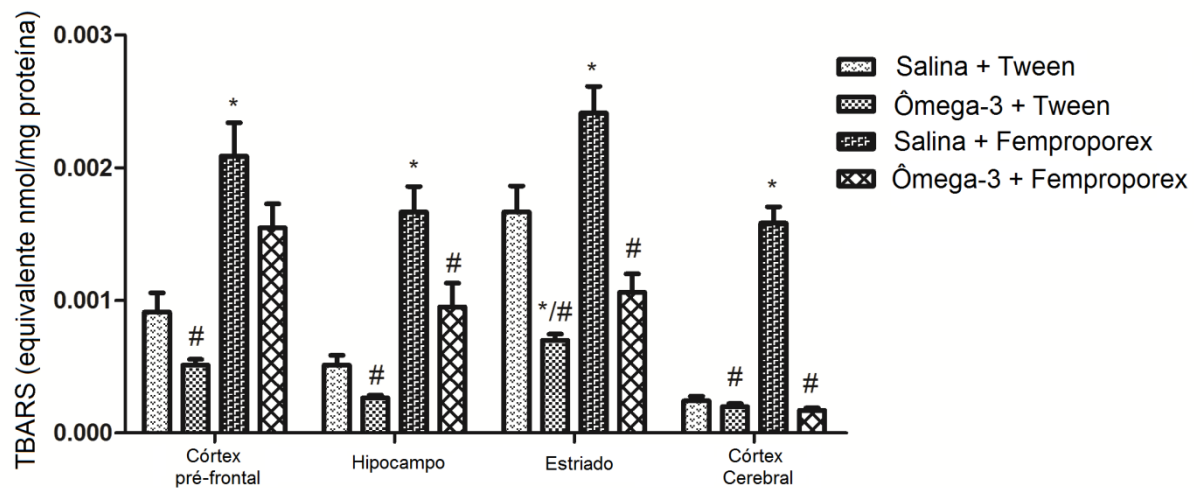


Figura 7. Efeitos do ômega-3 sobre os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico em cérebro de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex no protocolo de prevenção. Valores expressos como média +/- desvio padrão. Dados foram avaliados por análise de uma-via ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F for significativo. *Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo femproporex; $p < 0,05$.

No protocolo de reversão, houve aumento dos níveis de TBARS no grupo femproporex+salina em todas as estruturas avaliadas e a administração de ômega-3 conseguiu reverter esse dano no hipocampo. A administração isolada de ômega-3 aumentou níveis de TBARS em hipocampo. Além disso, a administração de femproporex+ômega-3 aumentou formação de TBARS em estriado.

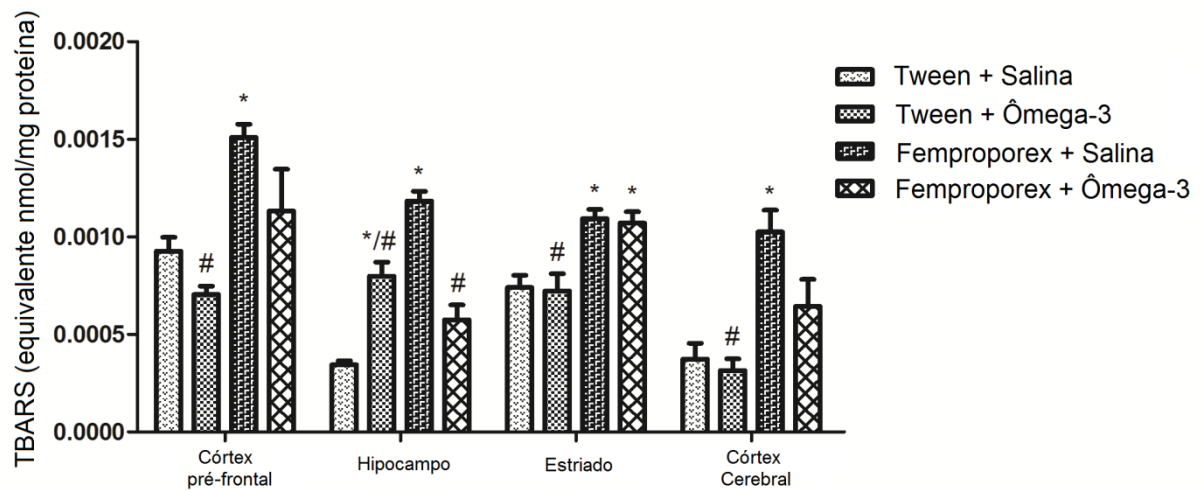


Figura 8. Efeitos do ômega-3 sobre os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico em cérebro de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex no protocolo de reversão. Valores expressos como média +/- desvio padrão. Dados foram avaliados por análise de uma-via ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F foi significativo. *Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo femproporex; $p < 0,05$.

5 DISCUSSÃO

Neste trabalho, como ferramenta farmacológica para a indução de mania, utilizou-se a administração de cloridrato de femproporex, cujo efeito assemelha-se ao da anfetamina, pois quando administrado é rapidamente convertido em anfetamina no organismo. Ele atua no SNC, diretamente na vesícula pré-sináptica, aumentando a liberação de dopamina e noradrenalina e bloqueando a recaptação de dopamina. Desse modo, eleva os níveis destes neurotransmissores na fenda sináptica (Mattei e Carlini, 1996; Brunton e Parker, 2010). A dopamina exerce papel crucial no controle motor, endócrino e principalmente em aspectos comportamentais. No SNC, o sistema de recompensa determina as sensações de prazer, sendo que os neurônios dopaminérgicos participam ativamente desta via. Drogas de abuso, por exemplo, participam direta ou indiretamente neste circuito de recompensa, potencializando a neurotransmissão dopaminérgica (Salomone et al., 1997; Knutson et al., 2001).

No teste comportamental, a administração de femproporex aumentou o comportamento locomotor dos animais no grupo femproporex nas duas etapas do experimento. Este resultado foi também observado no grupo femproporex+ômega-3, na etapa de reversão. Em um estudo anterior do laboratório de bioenergética desta universidade (dados não publicados) a administração aguda e crônica de femproporex nas doses de 6,25 mg; 12,5mg; e 25mg /kg de peso corporal aumentou tanto o número de cruzamentos quanto o comportamento exploratório dos animais, efeito característico da neurotransmissão noradrenérgica e dopaminérgica aumentada (Couts et al., 1986; Brunton e Parker, 2010). Contudo, neste trabalho, nenhum efeito foi observado em relação ao comportamento exploratório dos

animais. Este resultado assemelha-se a um estudo de Frey et al. (2006b), no qual um tratamento agudo e crônico com dextroanfetamina aumentou o comportamento locomotor de animais. Entretanto, em relação ao comportamento exploratório nenhum efeito foi observado. Taghzouti et al. (1986) sugerem que vários mecanismos envolvidos na neurotransmissão podem mediar o comportamento exploratório de animais induzido por anfetaminas, como por exemplo a neurotransmissão noradrenérgica promovida pelo *locus cereulus*. Logo, as diferenças individuais em parâmetros comportamentais parecem estar associadas com maior ou menor sensibilidade ao efeito farmacológico das anfetaminas. Esta hipótese poderia explicar porque foram observadas alterações somente em relação ao comportamento locomotor dos animais, sugerindo que as áreas cerebrais envolvidas com o comportamento exploratório tenham sido menos sensíveis ao efeito do femproporex. Outro parâmetro que poderia explicar as variantes comportamentais em modelos animais de mania com psicoestimulantes é a potência destes fármacos. As diversas substâncias anfetamínicas disponíveis no mercado parecem ter potência farmacológica diferente quanto à estimulação do SNC. Em estudo de Feier et al. (2012), a metanfetamina em doses elevadas aumentou o comportamento estereotipado de roedores, sugerindo um maior efeito psicoestimulante desse fármaco, quando comparado a dextroanfetamina.

Na etapa de reversão, o aumento do comportamento locomotor observado no grupo femproporex+ ω -3 sugere que estes AG não conseguiram reverter os efeitos comportamentais promovidos pelo femproporex. Já na etapa de prevenção, foi demonstrado que o grupo ω -3 apresentou uma diminuição do número de cruzamentos em relação ao controle. Em paralelo, Laviolle et al. (2008) demonstraram que uma dieta deficiente de ω -3 induziu aumento na atividade

locomotora de hamsters. Esses dados sugerem a importância do ômega-3 no equilíbrio da neurotransmissão excitatória e inibitória no SNC. Estes AG parecem potencializar os efeitos do GABA, principal neurotransmissor inibitório do SNC (El-Ansary et al., 2011), e exercer função direta na modulação de receptores gabaérgicos (Sogaard et al., 2006). Esta potencialização dos efeitos gabaérgicos pode ser uma explicação para o que ocorreu nos animais do grupo ômega-3, no qual ocorreu uma diminuição do comportamento locomotor. Cabe destacar que o papel dos AG ômega-3 é fundamental no equilíbrio da neurotransmissão no SNC, como um todo (Chalon et al., 2006; Kuperstein et al., 2008).

Na etapa de prevenção, o grupo ômega-3 e femproporex não demonstrou aumento significativo no número de cruzamentos em relação ao grupo controle, demonstrando que não houve a indução de comportamento maníaco neste grupo. Pode-se sugerir que a administração de ômega-3 preveniu a indução de comportamento maníaco nestes animais, através de mecanismos diversos no SNC. Estudos avaliando o potencial do ômega-3 em modelos animais de mania induzidos por psicoestimulantes ainda são escassos. Macêdo et al. (2012) demonstraram que a suplementação com ácido alfa-lipóico preveniu e reverteu o aumento do comportamento locomotor de animais tratados com dextroanfetamina. O ácido alfa-lipóico é encontrado naturalmente no organismo humano. Embora apresente algumas propriedades semelhantes aos AG ômega-3, como possível potencial antioxidante, o ácido alfa-lipóico parece exercer menor diversidade de mecanismos no SNC.

Vários mecanismos distintivos vêm sendo investigado acerca dos benefícios promovidos pelos AG ômega-3 em parâmetros de humor e comportamento. Animais privados de DHA demonstram redução na quantidade de dopamina e serotonina

livre, bem como diminuição na quantidade de receptores de dopamina (Delion et al., 1996; Kuperstein et al., 2008). A deficiência de DHA está associada a disfunções na neurotransmissão de serotonina, norepinefrina e dopamina no SNC, correlacionando-se diretamente com alterações no humor (Zimmer et al., 1998; Du Bois et al., 2006; Wu et al., 2008). Ao encontro destas evidências, a suplementação de AG ômega-3 parece estar diretamente relacionada com a melhora de sintomas da fase maníaca. Sagduyu et al. (2005) demonstraram que a suplementação com AG ômega-3 melhorou a irritabilidade de jovens bipolares, sintoma comum na fase maníaca da doença. Estudo de Clayton et al. (2009) mostrou que jovens bipolares tiveram redução de sintomas depressivos e maníacos após a suplementação com ômega-3. Neste sentido, pacientes bipolares suplementados com DHA parecem ser menos suscetíveis às recidivas da doença (Stoll et al., 1999).

O DHA é incorporado rapidamente no tecido cerebral e na retina durante o surto de crescimento do cérebro, que ocorre principalmente a partir do último trimestre da gravidez, até os dois anos de idade. Desde modo, atua primeiramente no desenvolvimento cerebral (Van de Rest et al., 2012). Além disso, os AG ômega-3 parecem ser estabilizadores naturais de membranas, estabilizando os canais de cálcio dependentes de voltagem, mecanismo de importância particular para o TB (Leaf, 2001). Evidências apontam um potencial neuroprotetor dos AG ômega-3, sugerindo que protejam sinapses de componentes neurotóxicos (Ryback, 2001; Bate et al., 2010), atuando principalmente na normalização de níveis de BDNF (Wu et al., 2004). Bhatia et al. (2011) verificaram que a deficiência de AG ômega-3 reduziu os níveis de ativação do BDNF em roedores. Neste contexto, foi demonstrado que os AG ômega-3 parecem aumentar a plasticidade sináptica, memória e aprendizado, através da ativação de CREB no hipocampo de animais (Wu et al., 2008). O papel

dos AG ômega-3 na modulação de BDNF é de especial importância no TB, considerando que a morte neuronal intensa ocorrida na fase inicial do distúrbio parece estar relacionada principalmente com níveis diminuídos de BDNF (Barbosa et al., 2013).

Sabe-se que o sistema límbico tem papel direto na diversidade de sintomas do TB, como a instabilidade afetiva, impulsividade e sintomas psicóticos. (Cummings, 1993). O hipocampo é um importante componente do sistema límbico, responsável principalmente pela memória e processamento de informações. Pacientes bipolares demonstram uma ativação anormal no hipocampo em testes de emoção, atenção e memória, sugerindo que tais pacientes tenham prejuízo nestes parâmetros (Chen et al., 2006). Estudos que evidenciam a disfunção cognitiva em pacientes bipolares sugerem que a fase maníaca seja a principal responsável por um agravamento deste quadro (Phillips et al., 2003; Tsai et al., 2007; Sheffield et al., 2012). Diante deste fato, o hipocampo parece ser muito protegido pela ação do ômega-3. Além disso, a exposição aos AG ômega-3 aumenta a neurogênese hipocampal associada com os processos cognitivos e comportamentais, promove a plasticidade sináptica e modula a expressão proteica para estimular a arborização dendrítica neuronal (Crupi et al., 2013; Kang e Gleason, 2013). De um modo geral, demonstra-se que suplementação de AG ômega-3 em pacientes bipolares parece promover uma maior densidade e integridade neuronal (Frangou et al., 2007), favorecendo a fluidez das membranas celulares em todo o SNC (Hirashima et al., 2004).

Em relação aos parâmetros de dano oxidativo, os níveis de TBARS foram aumentados no grupo femproporex em todas as estruturas avaliadas, tanto na etapa de prevenção quanto na etapa de reversão. Além disso, a administração de

femproporex aumentou a carbonilação de proteínas apenas no córtex cerebral, no experimento de prevenção. Já na etapa de reversão esse efeito foi observado em córtex pré-frontal e córtex cerebral. Estudos utilizando anfetaminas para a indução de mania demonstram que a hiperatividade induzida cronicamente nos animais está associada a graves danos cerebrais por um aumento na formação de radicais livres, e de lípideos e proteínas oxidados (Robinson e Kolb, 1997; Frey et al., 2006b; Riegel et al., 2009). O aumento da liberação de dopamina, principal característica da fase maníaca, aumenta o processo da sua metabolização através da monoamina oxidase (MAO) levando à produção de ER. Além disso, a dopamina pode sofrer auto-oxidação pela reação com ferro (Fe^{2+}). Na reação com o Fe^{2+} gerando um radical livre extremamente reativo, o radical hidroxila ($OH\cdot$), que pode induzir a oxidação de DNA, proteínas e lípideos (Berk et al., 2011). Em estudo anterior do laboratório de bioenergética desta universidade, Rezin et al. (2011) demonstraram que a administração aguda e crônica de femproporex em ratos jovens aumentou a atividade das enzimas citrato sintase, malato desidrogenase e succinato desidrogenase. As atividades de CK e dos complexos I, II, II-III e IV da cadeia respiratória mitocondrial também aumentaram, sugerindo alterações no metabolismo energético provocado por este psicoestimulante, o que pode promover um maior índice de radicais livres e consequente estresse oxidativo.

Os resultados deste trabalho demonstraram um grande potencial antioxidante dos AG ômega-3 em relação à peroxidação lipídica e carbonilação proteica. Especialmente em relação ao efeito preventivo. No grupo ômega-3+ femproporex, a diminuição de TBARS em relação ao grupo femproporex foi demonstrada em hipocampo, estriado e córtex. Quanto à carbonilação de proteínas, o efeito preventivo foi observado em todas as estruturas analisadas.

O efeito reversivo do ômega-3 também foi demonstrado nos resultados deste trabalho. Quanto à formação de TBARS, ele foi observado apenas no hipocampo. Neste contexto, evidências atuais demonstram que a exposição aos AG ômega-3 promove neurogênese e aumenta a plasticidade no hipocampo (Crupi et al., 2013; Kang e Gleason, 2013). Quanto à carbonilação de proteínas no experimento de reversão, a capacidade do ômega-3 em reverter o dano oxidativo foi observada em córtex pré-frontal, estriado e córtex cerebral. De uma forma geral, pode-se dizer que a administração de ômega-3 reverteu o dano oxidativo a lipídeos e proteínas, mesmo que parcialmente.

Compostos com atividade antioxidante são de fundamental interesse no TB, visto que pacientes bipolares demonstram um maior índice de dano oxidativo (Ross et al., 2011), principalmente na fase maníaca, na qual a taxa de peroxidação lipídica é muito elevada (Kunz et al., 2008) e a capacidade de defesa antioxidante está prejudicada (Kuloglu et al., 2002). A superóxido dismutase, importante enzima antioxidante, aparece elevada em pacientes maníacos crônicos, sugerindo uma possível resposta compensatória ao estresse oxidativo, que ocorre durante a fase aguda de episódios bipolares (Kunz et al., 2008). Estudo de Andreazza et al. (2013) demonstrou um maior índice de carbonilação de proteínas em sinaptossomas - terminais sinápticos isolados - de pacientes bipolares. Nesse mesmo estudo, foi demonstrado um elevado dano nitrosativo nas mitocôndrias destes pacientes, sugerindo que as mitocôndrias de pacientes bipolares sejam mais suscetíveis a danos nitrosativos reversíveis, enquanto que o dano oxidativo mais intenso ocorra nas proteínas sinápticas destes pacientes.

A morte neuronal pode envolver, direta ou indiretamente, o ataque das ER. Os alvos das ER incluem ácidos nucleicos, proteínas, citoesqueleto, matriz

extracelular e especialmente AG poli-insaturados de membrana (Bourre, 1988; Nowak, 2013). O DHA, devido à presença das seis ligações duplas entre átomos de carbono na sua cadeia de polieno (C=C), é extremamente sensível a danos oxidativos (Nowak, 2013). Ele atua nesse caso como um agente de sacrifício, ou seja, é uma molécula preferencialmente oxidada por ER para preservar biomoléculas que são fundamentais para o organismo (Halliwell e Gutteridge, 2007b). Além de exercer potencial antioxidante devido ao seu aspecto estrutural, o DHA parece se ligar a fatores de transcrição que afetam a expressão gênica, e desta forma modular a resposta ao estresse oxidativo e a capacidade antioxidante (Lapillonne et al., 2004). Efeitos dos AG ômega-3 sobre parâmetros de estresse oxidativo incluem diminuição do dano oxidativo a proteínas (Wu et al., 2004), diminuição do nível de peroxidação lipídica (Kesavulu et al., 2002) e aumento da disponibilidade da glutathione, principal antioxidante endógeno não enzimático dos seres humanos (Berger et al., 2008).

Além de suas propriedades antioxidantes, AG ômega-3 vêm demonstrando importantes propriedades antiinflamatórias, exercendo papel em mecanismos de defesa do sistema imune (Hulbert et al., 2005; Serebruany et al., 2011). O EPA aumenta o fornecimento de oxigênio e glicose para o cérebro (Katsumata et al., 1999), previne a agregação de plaquetas e inibe a conversão do ácido araquidônico em tromboxano (Bas et al., 2007). A suplementação com AG ômega-3 resulta num decréscimo significativo da atividade da fosfolipase A2, enzima que inicia a via metabólica da cascata do ácido araquidônico, importante no processo inflamatório (Smesny et al., 2013). O efeito do ômega-3 na cascata do ácido araquidônico parece ser de particular relevância, visto que estabilizadores de humor também parecem

atuar nesta via (Rao et al., 2008). Por fim, o DHA atua impedindo a apoptose neuronal e suprimindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (Das, 2008).

Os AG ômega-3 têm sido propostos como uma opção nutricional adjuvante em diversas condições patológicas. Além das propriedades benéficas citadas ao longo deste trabalho, esses AG possuem baixíssima taxa de toxicidade, teratogenicidade e efeitos colaterais. Deste modo, não oferecem riscos a crianças, mulheres em idade fértil, gestantes e lactantes (Le-Niculescu et al., 2011). Contudo, considerando a heterogeneidade genética e biológica do TB, é possível que nem todos os pacientes respondam igualmente ao tratamento com DHA. Além disso, a dose apropriada é ainda algo a ser definido futuramente. Os trabalhos publicados até agora não têm um padrão de dose para experimentação em animais, e tão pouco para testes clínicos em humanos (Prior e Galduróz, 2012).

Este trabalho demonstrou que o ômega-3 teve um efeito na prevenção do comportamento do tipo maníaco nos animais. Além disso, preveniu e reverteu o dano oxidativo a lipídeos e proteínas.

Considerando que a natureza do TB implica um processo ativo de morte neuronal que parece ser mediado principalmente por estresse oxidativo, inflamação e alterações na neurogênese (Berk et al., 2013), os resultados demonstrados neste trabalho, complementados por demais estudos já existentes, fortalecem a ideia de que os AG ômega-3 tem um papel importante na modulação de parâmetros comportamentais, além de exercer mecanismos antioxidantes no SNC. Estas evidências tornam os AG ômega-3 uma ferramenta importantíssima que pode ter papel relevante como coadjuvante na terapia do TB.

6 PERSPECTIVAS

- Avaliar as enzimas antioxidantes, enzimas do ciclo de Krebs e complexos da cadeia respiratória mitocondrial de animais submetidos ao modelo animal de mania induzido pelo femproporex tratados com AG ômega-3;
- Avaliar níveis de BDNF e NGF em animais submetidos ao modelo animal de mania induzido pelo femproporex tratados com AG ômega-3;
- Avaliar parâmetros inflamatórios em animais submetidos ao modelo animal de mania induzido pelo femproporex tratados com AG ômega-3;
- Avaliar o efeito dos AG ômega-3 em animais submetidos ao modelo animal de mania induzido pelo femproporex, comparado e associado a estabilizadores de humor já consolidados na terapia do TB.

REFERÊNCIAS

Ackenheil M. Neurotransmitters and signal transduction processes in bipolar affective disorders: a synopsis. *J Affect Disord.* 2001; 62(1-2): 101-11.

American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4^a ed. Arlington: American Psychiatric Pub; 2000.

Amminger GP, Schäfer MR, Papageorgiou K, Klier CM, Cotton SM, Harrigan SM, Mackinnon A, McGorry PD, Berger GE. Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: a randomized, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry.* 2010; 67(2): 146-54.

Anand A; Verhoeff P; Seneca N, Zoghbi SS; Seibyl JP; Charney DS; Innis RB. Brain spect imaging of amphetamine-induced dopamine release in euthymic bipolar disorder patients. *Am J Psychiatry.* 2000; 157(7): 1108-14.

Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, Yatham LN. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord.* 2008 ; 111(2-3): 135-44.

Andreazza AC, Wang JF, Salmasi F, Shao L, Young LT. Specific subcellular changes in oxidative stress in prefrontal cortex from patients with bipolar disorder. *J Neurochem.* 2013.

Angst F, Stassen HH, Clayton PJ, Angst J. Mortality of patients with mood disorders: follow-up over 34–38 years. *J Affect Disord.* 2002; 68(2-3): 167–81.

ANVISA . Nota técnica sobre eficácia e segurança dos medicamentos inibidores de apetite. Brasília: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária, 2011.

Avissar S, Schreiber G, Danon A, Belmaker RH. Lithium inhibits adrenergic and cholinergic increases in GTP binding in rat cortex. *Nat.* 1988.; 331(6155): 440-42.

Baker KR, Matthan NR, Lichtenstein AH, Niu J, Guermazi A, Roemer F, Grainger A, Nevitt MC, Clancy M, Lewis CE, Torner JC, Felson DT. Association of plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids with synovitis in the knee: the most study. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012; 20(5): 382-7.

Balanzá-Martínez V, Fries GR, Colpo GD, Silveira PP, Portella AK, Tabarés-Seisdedos R, Kapczinski F. Therapeutic use of omega-3 fatty acids in bipolar disorder. *Expert Rev Neurother.* 2011; 11(7): 1029-47.

Baraibar MA, Liu L, Ahmed EK, Friguet B. Protein oxidative damage at the crossroads of cellular senescence, aging, and age-related diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2012; 12(9): 919-32.

Barbosa IG, Rocha NP, Miranda AS, Huguet RB, Bauer ME, Reis HJ, Teixeira AL. Increased BDNF levels in long-term bipolar disorder patients. *Rev Bras Psiquiatr*. 2013; 35(1): 67-9.

Barnett JH, Smoller JW. The genetics of bipolar disorder. *Neurosci*. 2009; 164(1): 331–43.

Barros, D.M., Izquierdo, L.A., Medina, J.H., Izquierdo, I. Bupropion and sertraline enhance retrieval of recent and remote long-term memory in rats. *Behav Pharmacol*. 2002; 13(2): 215–20.

Bas O, Songur A, Sahin O et al. The protective effect of fish n-3 fatty acids on cerebral ischemia in rat hippocampus. *Neurochem Int*. 2007; 15(3): 548–54.

Bate C, Tayebi M, Salmona M, Diomedea L, Williams A. Polyunsaturated fatty acids protect against prion-mediated synapse damage in vitro. *Neurotox Res*. 2010; 17(3): 203-14.

Bauer M, Pfennig A. Epidemiology of bipolar disorders. *Epilepsia*. 2005; 46(4): 8–13.

Berger GE, Wood SJ, Wellard RM, Proffitt TM, McConchie M, Amminger GP, Jackson GD, Velakoulis D, Pantelis C, McGorry PD. Ethyl-eicosapentaenoic acid in first-episode psychosis: A 1H-MRS study. *Neuropsychopharmacol*. 2008; 33(10): 2467–73.

Berk M, Kapczinski F, Andreazza AC, Dean OM, Giorlando F, Maes M, Yücel M, Gama CS, Dodd S, Dean B, Magalhães PV, Amminger P, McGorry P, Malhi GS. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci Biobehav Rev*. 2011; 35(3): 804-17.

Berk M, Berk L, Dodd S, Cotton S, Macneil C, Daglas R, Conus P, Bechdolf A, Moylan S, Malhi GS. Stage managing bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2013.

Bezard J, Blond JP, Bernard A, Clouet P. The metabolism and availability of essential fatty acids in animal human tissues. *Reprod Nutr Dev*. 1994; 34(6): 539–68.

Bielau H, Brisch R, Bernard-Mittelstaedt J, Dobrowolny H, Gos T, Baumann B, Mawrin C, Bernstein HG, Bogerts B, Steiner J. Immunohistochemical evidence for

impaired nitric oxide signaling of the locus coeruleus in bipolar disorder. *Brain Res.* 2012; 1459: 91-9.

Bird RP, Draper AH. Comparative studies on different methods of malondyaldehyde determination. *Methods Enzymol.* 1984; 105: 299-05.

Birgenheir DG, Ilgen MA, Bohnert AS, Abraham KM, Bowersox NW, Austin K, Kilbourne AM. Pain conditions among veterans with schizophrenia or bipolar disorder. *Gen Hosp Psychiatry.* 2013.

Bhatia HS, Agrawal R, Sharma S, Huo YX, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Omega-3 fatty acid deficiency during brain maturation reduces neuronal and behavioral plasticity in adulthood. *Plos One.* 2011; 6(12): e28451

Bourin M, Thibaut F. How assess drugs in the treatment of acute bipolar mania? *Front Pharmacol.* 2013; 4: 4.

Bourre JM. Free radicals, polyunsaturated fatty acids, cell death, brain aging. *C R Seances Soc Biol Fil.* 1988; 182(1): 5-36.

Bowden CL. Bipolar pathophysiology and development of improved treatments. *Brain Res.* 2008; 1235: 92–7.

Brunton LL, Parker, KL. Goodman e Gilman: manual de farmacologia e terapêutica. Porto Alegre: AMGH, 2010; 164-5.

Castrén E, Rantamäki T. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: Reactivation of developmental plasticity. *Dev Neurobiol.* 2010; 70(5): 289-97.

Chalon S, Delion-Vancassel S, Belzung C, Guilloteau D, Leguisquet AM, Besnard JC, Durand G. Dietary fish oil affects monoaminergic neurotransmission and behavior in rats. *J. Nutr.* 1998; 128(12): 2512–19.

Chalon S. Omega-3 fatty acids and monoamine neurotransmission. *Prostag Leukot Essent Fatty Acids.* 2006; 75(4-5): 259–69.

Che Y, Wang JF, Shao L, Young T. Oxidative damage to RNA but not DNA in the hippocampus of patients with major mental illness. *J Psychiatry. Neurosci.* 2010; 35(5): 296–02.

Chen CH, Lennox B, Jacob R, Calder A, Lupson V, Bisbrown-Chippendale R, Suckling J, Bullmore E. Explicit and implicit facial affect recognition in manic and depressed states of bipolar disorder: a functional magnetic resonance imaging study. *Biolog Psyc.* 2006; 59(1): 31-9.

Clay HB, Sullivan S, Konradi C. Mitochondrial dysfunction and pathology in bipolar disorder and schizophrenia. *Int J Dev Neurosci.* 2011; 29(3): 311-24.

Clayton EH, Hanstock TL, Hirneth SJ, Kable CJ, Garg ML, Hazell PL. Reduced mania and depression in juvenile bipolar disorder associated with long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation. *Eur J Clin Nutr.* 2009; 63(8): 1037–40.

Clements C, Morriss R, Jones S, Peters S, Roberts C, Kapur N. Suicide in bipolar disorder in a national English sample, 1996-2009: frequency, trends and characteristics. *Psychol Med.* 2013: 1-10.

Coutts RT, Nazarali AJ, Baker GB, Pasutto FM. Metabolism and disposition of N-(2-cyanoethyl) amphetamine (fenproporex) and amphetamine: study in the rat brain. *Can J Physiol Pharmacol.* 1986; 64(6): 724-8.

Crupi R, Marino A, Cuzzocrea S. n-3 fatty acids: Role in neurogenesis and neuroplasticity. *Curr Med Chem.* 2013.

Cummings, J.L. Frontal–subcortical circuits and human behavior. *Arch Neurol.* 1993 ; 50(8): 873-80.

Das UN. Folic acid and polyunsaturated fatty acids improve cognitive function and prevent depression, dementia, and Alzheimer's disease – but how and why? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2008; 78(1): 11–9.

Delion S, Chalon S, Guilloteau D, Besnard JC, Durand G. alinolenic acid dietary deficiency alters age-related changes of dopaminergic and serotonergic neurotransmission in the rat frontal cortex. *J. Neurochem.* 1996; 66(4): 1582–91.

Du Bois TM, Deng C, Bell W, Huang XF. Fatty acids differentially affect serotonin receptor and transporter binding in the rat brain. *Neurosci.* 2006; 139(4): 1397-03.

El-Ansary AK, Al-Daihan SK, El-Gezeery AR. On the protective effect of omega-3 against propionic acid-induced neurotoxicity in rat pups. *Lipids Health Dis.* 2011; 10:142.

Ellenbroek, B.A.; Cools, A.R. Animal models with construct validity for schizophrenia. *Behav Pharmacol.* 1990; 1(6): 469-90.

Emken EA, Adlof RO, Gulley RM. Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males. *Biochim Biophys Acta.* 1994; 1213(3): 277–88.

Evans DL, Charney DS. Mood disorders and medical illness: a major public health problem. *Biological Psychiatry*. 2003; 54(3): 177-80.

Fagiolini A, Kupfer DJ, Houck PR, Novick DM, Frank E. Obesity as a correlate of outcome in patients with bipolar disorder. *Am J Psychiatry*. 2003; 160(1): 112-17.

Faraone SV, Glatt SJ, Tsuang MT. The genetics of pediatric-onset bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2003; 53(11): 970-77.

Feier G, Valvassori SS, Lopes-Borges J, Varela RB, Bavaresco DV, Scaini G, Morais MO, Andersen ML, Streck EL, Quevedo J. Behavioral changes and brain energy metabolism dysfunction in rats treated with methamphetamine or dextroamphetamine. *Neurosci Lett*. 2012; 530(1): 75-9.

Fekete K, Decsi T. Long-chain polyunsaturated fatty acids in inborn errors of metabolism. *Nutrients*. 2010; 2(9): 965-74.

Frangou S, Lewis M, Wollard J, Simmons A. Preliminary in vivo evidence of increased N-acetyl-aspartate following eicosapentanoic acid treatment in patients with bipolar disorder. *J. Psychopharmacol*. 2007; 21(4): 435-9.

Frey, B.N., Valvassori, S.S., Réus, G.Z., Martins, M.R., Petronilho, F.C., Bardini, K., Dal-Pizzol, F., Kapczinski, F., Quevedo, J., 2006. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J Psychiatry Neurosci*. 2006a; 31(5): 326-32.

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 Research*, 2006b; 1097(1): 224-29

Gawryluk JW, Wang JF, Andreatza 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(1): 123-30

Gertsik L, Poland RE, Bresee C, Rapaport MH. Omega-3 fatty acid augmentation of citalopram treatment for patients with major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2012; 32(1): 61-4.

Ghanizadeh A, Berk M. Molecular hydrogen: an overview of its neurobiological effects and therapeutic potential for bipolar disorder and schizophrenia. *Med Gas Res*. 2013; 3(1): 11.

Gigante AD, Andreatza AC, Lafer B, Yatham LN, Beasley CL, Young LT. Decreased mRNA expression of uncoupling protein 2, a mitochondrial proton

transporter, in post-mortem prefrontal cortex from patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2011; 505(1): 47-51.

Gitlin MJ, Swendsen J, Heller TL, Hammen C. Relapse and impairment in bipolar disorder. *Am J Psychiatry*. 1995; 152(11): 1635-40.

Gonçalves CL, Rezin GT, Ferreira GK, Jeremias IC, Cardoso MR, Valvassori SS, Munhoz BJ, Borges GD, Bristot BN, Leffa DD, Andrade VM, Quevedo J, Streck EL. Effects of acute and chronic administration of fenproporex on DNA damage parameters in young and adult rats. *Mol Cell Biochem*. 2013.

Gonda X, Pompili M, Serafini G, Montebovi F, Campi S, Dome P, Duleba T, Girardi P, Rihmer Z. Suicidal behavior in bipolar disorder: Epidemiology, characteristics and major risk factors. *J Affect Disord*. 2012; 143(1-3): 16-26.

Gorwood P. Confusing clinical presentations and differential diagnosis of bipolar disorder. *Encephale*. 2004; 30(2): 182-93.

Guest J, Garg M, Bilgin A, Grant R. Relationship between central and peripheral fatty acids in humans. *Lipids Health Dis*. 2013; 12:79.

Hahn CG, Umapathy Wang HY, Koneru R, Levinson DF, Friedman E. Lithium and valproic acid treatments reduce PKC activation and receptor-G protein coupling in platelets of bipolar manic patients. *Jour.Psychiatry Res*. 2005; 39(4): 355-63.

Hajianfar H, Paknahad Z, Bahonar A. The effect of omega-3 supplements on antioxidant capacity in patients with type 2 diabetes. *Int J Prev Med*. 2013; 4(2): 234-8

Halliwell B, Gutteridge JMC. Review Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J*. 1984; 219(1): 1-14.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Cellular responses to oxidative stress: adaptation, damage, repair, senescence and death. New York: Oxford University Press, 2007a.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 4^a ed. New York: Oxford University Press, 2007b.

Hammer C, Cichon S, Mühleisen TW, Haenisch B, Degenhardt F, Mattheisen M, Breuer R, Witt SH, Strohmaier J, Oruc L, Rivas F, Babadjanova G, Grigoriu-Serbanescu M, Hauser J, Röth R, Rappold G, Rietschel M, Nöthen MM, Niesler B. Replication of functional serotonin receptor type 3A and B variants in bipolar affective disorder: a European multicenter study. *Transl Psychiatry*. 2012; 2:103.

Hirashima F, Parow AM, Stoll AL, Demopoulos CM, Damico KE, Rohan ML, Eskesen JG, Zuo CS, Cohen BM, Renshaw PF. Omega-3 fatty acid treatment and

T(2) whole brain relaxation times in bipolar disorder. *Am J Psychiatry*. 2004; 161(10): 1922-4.

Huang T-L, Hung Y-Y, Lee C-T, Chen R-F: Serum Protein Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Tropomyosin-Related Kinase B in Bipolar Disorder: Effects of Mood Stabilizers. *Neuropsychobiology*. 2012; 65(2): 65-9.

Hulbert AJ, Turner N, Storlien LH, Else PL. Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2005; 80(1): 155–69.

Infante, J.P.; Huszagh, V.A. On the molecular etiology of decreased arachidonic (20:4n-6), docosapentaenoic (22:5n-6) and docosahexaenoic (22:6n-3) acids in Zellweger syndrome and other peroxisomal disorders. *Mol Cell Biochem*. 1997; 168(1-2): 101-115.

Johnson S. L., Sandrow D., Meyer B., Winters R., Miller I., Keitner G., et al. Increases in manic symptoms following life events involving goal-attainment. *J Abnorm Psychol*. 2000; 109(4): 721–27

Jones SH, Hare DJ, Evershed K. Actigraphic assessment of circadian activity and sleep patterns in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2005; 7(2): 176-86.

Joyce PR, Fergusson DM, Woollard G, Abbott RM, Horwood LJ, Upton J. Urinary catecholamines and plasma hormones predict mood state in rapid cycling bipolar affective disorder. *J Affect Disord*. 1995; 33(4): 233-43.

Kalin N. Management of the depressive component of bipolar disorder. *Depress Anxiety*. 1996; 4(4): 190-8.

Kang JX, Gleason ED. Omega-3 Fatty Acids and Hippocampal Neurogenesis in Depression. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2013 Apr 4.

Kapczinski F, Frey BN, Zannatto V. Physiopathology of bipolar disorders: what have changed in the last 10 years? *Rev Bras Psiquiatr*. 2004; 3:17-21.

Kaplan, HI; Sadock, BJ. *Tratado de Psiquiatria*. Porto Alegre: Artmed. 6^a ed.1999.

Katsumata T, Katayama Y, Obo R, Muramatsu H, Ohtori T, Terashi A. Delayed administration of ethyl eicosapentate improves local cerebral blood flow and metabolism without affecting infarct volumes in the rat focal ischemic model. *Eur J Pharmacol*.1999; 372(2):167–74.

Kesavulu MM, Kameswararao B, Apparao Ch, Kumar EG, Harinarayan CV. Effect of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab.* 2002; 28(1): 20-6.

Kim HY, Akbar M, Kim YS. Phosphatidylserine-dependent neuroprotective signaling promoted by docosahexaenoic acid. *Prostaglandins Leuko Essent Fatty Acids.* 2010; 82(4-6): 165-72.

Kimura H, Osaki A, Kawashima R, Inoue T, Nakagawa S, Suzuki K, Asakura S, Tanaka T, Kitaichi Y, Masui T, Kitagawa N, Kako Y, Abekawa T, Kusumi I, Yamanaka H, Denda K, Koyama T. Differences between bipolar and unipolar depression on Rorschach testing. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2013; 9: 619-27.

Kishi T, Yoshimura R, Fukuo Y, Okochi T, Matsunaga S, Umene-Nakano W, Nakamura J, Serretti A, Correll CU, Kane JM, Iwata N. The serotonin 1A receptor gene confer susceptibility to mood disorders: results from an extended meta-analysis of patients with major depression and bipolar disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2013; 263(2): 105-18.

Knutson B, Adams CM, Fong G W, Hommer D. Anticipation of increasing monetary reward selectively recruits nucleus accumbens. *J Neurosci.* 2001; 21(16): 159.

Koletzko B, Beblo S, Demmelmair H, Müller-Felber W, Hanebutt, FL. Does dietary DHA improve neural function in children? Observations in phenylketonuria. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2009; 81(2-3): 159-64.

Krawczyk K, Rybakowski J. Augmentation of antidepressants with unsaturated fatty acids omega-3 in drug-resistant depression. *Psychiatr Pol.* 2012; 46(4): 585-98.

Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M, Canatan H, Tezcan AE, Cinkilinc N. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochem and Function.* 2002; 20(2): 171-5.

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(7): 1677-81.

Kuperstein F, Eilam R, Yavin E. Altered expression of key dopaminergic regulatory proteins in the postnatal brain following perinatal n-3 fatty acid dietary deficiency. *J Neurochem.* 2008; 106(2): 662-71.

Lapillonne A, Clarke SD, Heird WC. Polyunsaturated fatty acids and gene expression. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004; 7(2): 151-56.

Latalova K, Prasko J, Kamaradova D, Sedlackova J, Ociskova M. Comorbidity bipolar disorder and personality disorders. *Neuro Endocrinol Lett*. 2013; 34(1): 1-8.

Lavialle M, Champeil-Potokar G, Alessandri JM, et al. An (n-3) polyunsaturated fatty acid-deficient diet disturbs daily locomotor activity, melatonin rhythm, and striatal dopamine in Syrian hamsters. *J Nutr*. 2008; 138(9): 1719-24.

Le-Niculescu H, Case NJ, Hulvershorn L, Patel SD, Bowker D, Gupta J, Bell R, Edenberg HJ, Tsuang MT, Kuczenski R, Geyer MA, Rodd ZA, Niculescu AB. Convergent functional genomic studies of ω -3 fatty acids in stress reactivity, bipolar disorder and alcoholism. *Transl Psychiatry*. 2011; 1: 4.

Leaf A. The electrophysiologic basis for the antiarrhythmic and anticonvulsant effects of n-3 polyunsaturated fatty acids: heart and brain. *Lipids*. 2001; 36: 107-10.

Leclerc E, Mansur RB, Brietzke E. Determinants of adherence to treatment in bipolar disorder: A comprehensive review. *J Affect Disord*. 2013; 149(1-3): 247-52.

Levine RL, Garland D, Oliver CN. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol*. 1994; 233: 346-57.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951; 193(1): 265-75.

Luykx JJ, Boks MP, Terwindt AP, Bakker S, Kahn RS, Ophoff RA. The involvement of GSK3 beta in bipolar disorder: integrating evidence from multiple types of genetic studies. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2010; 20(6): 357-68.

Macêdo DS, Medeiros CD, Cordeiro RC, Sousa FC, Santos JV, Morais TA, Hyphantis TN, McIntyre RS, Quevedo J, Carvalho AF. Effects of alpha-lipoic acid in an animal model of mania induced by D-amphetamine. *Bipolar Disord*. 2012; 14(7): 707-18.

Mahadik SP, Pillai A, Joshi S, Foster A. Prevention of oxidative stress-mediated neuropathology and improved clinical outcome by adjunctive use of a combination of antioxidants and omega-3 fatty acids in schizophrenia. *Int Rev Psychiatry*. 2006; 18(2): 119-31.

Manji HK, Duman RS. Impairments of neuroplasticity and cellular resilience in severe mood disorders: implications for the development of novel therapeutics. *Psychopharmacol Bull*. 2001; 35(2): 5-49.

Mattei R, Carlini EA. A comparative study of the anorectic and behavioral effects of fenproporex on male and female rats. *Braz J Med Biol Res.* 1996; 29(8): 1025-30.

McIntyre RS, Soczynska JK, Beyer JL, Woldeyohannes HO, Law CW, Miranda A, Konarski JZ, Kennedy SH. Medical comorbidity in bipolar disorder: re-prioritizing unmet needs. *Curr Opin Psychiatry.* 2007; 20(4): 406-16.

McKenney JM, Sica D. Role of prescription omega-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia. *Pharmacotherapy.* 2007; 27(5): 715-28

McNamara RK, Jandacek R, Rider T, Tso P, Dwivedi Y, Pandey GN. Selective deficits in erythrocyte docosahexaenoic acid composition in adult patients with bipolar disorder and major depressive disorder. *J Affect Disord.* 2010; 126(1-2): 303-11.

Merikangas KR, Akiskal HS, Angst J, Greenberg PE, Hirschfeld RM, Petukhova M, Kessler RC. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar spectrum disorder in the National Comorbidity Survey replication. *Arch Gen Psychiatry.* 2007; 64(5): 543-52.

Merikangas KR, Jin R, He JP, Kessler RC, Lee S, Sampson NA, Viana MC, Andrade LH, Hu C, Karam EG, Ladea M, Medina-Mora ME, Ono Y, Posada-Villa J, Sagar R, Wells JE, Zarkov Z. Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. *Arch Gen Psychiatry.* 2011; 68(3): 241-51.

Moreira CQ, Faria MJ, Moreira EG. Behavioral neurotoxicity in adolescent and adult mice exposed to fenproporex during pregnancy. *Hum Exp Toxicol.* 2005; 24(8): 403-8.

Mossaheb N, Schäfer MR, Schlögelhofer M, Klier CM, Cotton SM, McGorry PD, Amminger GP. Effect of omega-3 fatty acids for indicated prevention of young patients at risk for psychosis: When do they begin to be effective? *Schizophr Res.* 2013

Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo.* 1999 ; 13(3): 295-309.

Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci.* 2010; 13(10): 1161-9.

Nierenberg AA, Kansky C, Brennan BP, Shelton RC, Perlis R, Iosifescu DV. Mitochondrial modulators for bipolar disorder: A pathophysiologically informed paradigm for new drug development. *Aust N Z J Psychiatry*. 2012; 47(1): 26-42.

Nilsson KK. Early maladaptive schemas and functional impairment in remitted bipolar disorder patients. *J Behav Ther Exp Psychiatry*. 2012; 43(4): 1104-8.

Noaghiul S, Hibbeln JR. Cross-national comparisons of seafood consumption and rates of bipolar disorders. *Am J Psychiatry*. 2003; 160(12) :2222-7.

Nowak JZ. Oxidative stress, polyunsaturated fatty acids-derived oxidation products and bisretinoids as potential inducers of CNS diseases: focus on age-related macular degeneration. *Pharmacol Rep*. 2013; 65(2): 288-304.

Oh DY, Talukdar S, Bae EJ, Imamura T, Morinaga H, Fan W, Li P, Lu WJ, Watkins SM, Olefsky JM. GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*. 2010; 142(5): 687-98.

Ozyurt B, Sarsilmaz M, Akpolat N, Ozyurt H, Akyol O, Herken H, Kus I. The protective effects of omega-3 fatty acids against MK-801-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rat. *Neurochem Int*. 2007; 50(1): 196-202.

Park SY, Kang UG. Hypothetical dopamine dynamics in mania and psychosis—its pharmacokinetic implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013; 43: 89-95.

Pinsonneault JK, Han DD, Burdick KE, Kataki M, Bertolino A, Malhotra AK, Gu HH, Sadee W. Dopamine transporter gene variant affecting expression in human brain is associated with bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2011; 36(8): 1644-55.

Phillips ML, Drevets WC, Rauch SL, Lane R. Neurobiology of emotion perception II: Implications for major psychiatric disorders. *Biol Psychiatry*. 2003; 54(5):515-28.

Pitchot W, Scantamburlo G, Ansseau M, Souery D. Bipolar disorder: a multifactorial disease. *Rev Med Liege*. 2012; 67(5-6): 366-73.

Post RM. Kindling and sensitization as models for affective episode recurrence, cyclicity, and tolerance phenomena. *Neurosci Biobehav Rev*. 2007; 31(6): 858-73.

Prasko J, Ociskova M, Kamaradova D, Sedlackova Z, Cerna M, Mainerova B, Sandoval A. Bipolar affective disorder and psychoeducation. *Neuro Endocrinol Lett*. 2013; 34(2): 83-96.

Price AL, Marzani-Nissen GR. Bipolar disorders: a review *Am Fam Physician*. 2012; 85(5): 483-93.

Prior PL, Galduróz JC. (N-3) Fatty acids: molecular role and clinical uses in psychiatric disorders. *Adv Nutr*. 2012; 3(3): 257-65.

Rajkowska G. Cell pathology in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2002; 4(2): 105-16.

Rao JS, Lee HJ, Rapoport SI, Bazinet RP. Mode of action of mood stabilizers: is the arachidonic acid cascade a common target? *Mol Psychiatry*. 2008; 13(6): 585-96.

Radosinska J, Bacova B, Knezl V, Benova T, Zurmanova J, Soukup T, Arnostova P, Slezak J, Gonçalvesova E, Tribulova N. Dietary omega-3 fatty acids attenuate myocardial arrhythmogenic factors and propensity of the heart to lethal arrhythmias in a rodent model of human essential hypertension. *J Hypertens*. 2013.

Rezin GT, Quevedo J, Streck EL. Fisiopatologia do transtorno bipolar. *Rev Pesq Ext Saúde*. 2008; 3(1).

Rezin GT, Jeremias IC, Ferreira GK, Cardoso MR, Morais MO, Gomes LM, Martinello OB, Valvassori SS, Quevedo J, Streck EL. Brain energy metabolism is activated after acute and chronic administration of fenproporex in young rats. *Int J Dev Neurosci*. 2011; 29(8): 937-42.

Rezin GT, Scaini G, Ferreira GK, Cardoso MR, Gonçalves CL, Constantino LS, Deroza PF, Ghedim FV, Valvassori SS, Resende WR, Quevedo J, Zugno AI, Streck EL. Inhibition of acetylcholinesterase activity in brain and behavioral analysis in adult rats after chronic administration of fenproporex. *Metab Brain Dis*. 2012; 27(4): 453-8.

Riegel RE, Valvassori SS, Elias G, Réus GZ, Steckert AV, de Souza B, Petronilho F, Gavioli EC, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Animal model of mania induced by ouabain: Evidence of oxidative stress in submitochondrial particles of the rat brain. *Neurochem Int*. 2009; 55(7): 491-5.

Robinson TE, Kolb B. Persistent structural modifications in nucleus accumbens and prefrontal cortex neurons produced by previous experience with amphetamine. *J Neurosci*. 1997; 17(21): 8491–7.

Ross BM, Maxwell R, Glen I. Increased breath ethane levels in medicated patients with schizophrenia and bipolar disorder are unrelated to erythrocyte omega-

3 fatty acid abundance. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011; 35(2): 446-53.

Ryback R. Bioelectrical modulators and the cell membrane in psychiatric medicine. *Psychopharmacol Bull*. 2001; 35(4): 5-44.

Sagduyu K, Dokucu ME, Eddy BA, Craigen G, Baldassano CF, Yildiz A. Omega-3 fatty acids decreased irritability of patients with bipolar disorder in an add-on, open label study. *Nutr J*. 2005; 4: 1-6.

Salomone JD, Cousins MS, Snyder BJ. Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev*. 1997; 21(3): 341-59.

Serebruany VL, Miller M, Pokov AN, Lynch D, Jensen JK, Hallén J, Atar D. Early impact of prescription omega-3 fatty acids on platelet biomarkers in patients with coronary artery disease and hypertriglyceridemia *Cardiology*. 2011; 118(3): 187–94.

Severino G, Squassina A, Costa M, Pisanu C, Calza S, Alda M, Del Zompo M, Manchia M. Pharmacogenomics of bipolar disorder. *Pharmacogen*. 2013; 14(6): 655-74.

Shaltiel G, Guang C, Hussein K, Manji HK. Neurotrophic signaling cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Curr Opin Pharmacol*. 2007 ; 7(1) : 22-6.

Sheffield JM, Williams LE, Cohen N, Heckers S. Relational memory in psychotic bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2012, 14(5): 537-46.

Shiah IS, Yatham LN. Serotonin in mania and in the mechanism of action of mood stabilizers: a review of clinical studies. *Bipolar Disord*. 2000; 2(2): 77-92.

Siegel G, Ermilov E. Omega-3 fatty acids: benefits for cardio-cerebro-vascular diseases. *Atheroscler*. 2012; 225(2): 291-5.

Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, Vanden Heuvel JP, Wagner PR, West SG. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. *Am J Clin Nutr*. 2011; 93 (2): 243–252.

Smesny S, Milleit B, Hipler UC, Milleit C, Schäfer MR, Klier CM, Holub M, Holzer I, Berger GE, Otto M, Nenadic I, Berk M, McGorry PD, Sauer H, Amminger GP. Omega-3 fatty acid supplementation changes intracellular phospholipase A2

activity and membrane fatty acid profiles in individuals at ultra-high risk for psychosis. *Mol Psychiatry*.

Smoller JW, Finn CT. Family, twin, and adoption studies of bipolar disorder. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2003; 123(1): 48–58.

Sogaard R, Werge TM, Bertelsen C, Lundbye C, Madsen KL, Nielsen CH, Lundbaek JA. GABA(A) receptor function is regulated by lipid bilayer elasticity. *Biochemistry*. 2006; 45(43): 13118-29.

Soreca I, Frank E, Kupfer DJ. The phenomenology of bipolar disorder: what drives the high rate of medical burden and determines long-term prognosis? *Depress. Anxiety*. 2009; 26(1): 73-82.

Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*. 2003; 25(3-4): 207-18.

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(9): 1295-301.

Stoll AL, Severus WE, Freeman MP, Rueter S, Zboyan HA, Diamond E, Cress KK, Marangell LB. Omega 3 fatty acids in bipolar disorder: a preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry*. 1999; 56(5): 407-12.

Stoll AL, Renshaw PF, Yurgelun-Todd D, Cohen BM. Neuroimaging in bipolar disorder: what have we learned? *Biol Psychiatry*. 2001; 48(6): 505-17.

Taghzouti K, Simon H, Le Moal M. Disturbances in exploratory behavior and functional recovery in the Y and radial mazes following dopamine depletion of the lateral septum. *Behav Neural Biol*. 1986; 45(1): 48-56.

Tsai SY, Lee HC, Chen CC, Huang YL. Cognitive impairment in later life in patients with early-onset bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2007; 9(8): 868-75.

Tsai SY, Chung KH, Wu JY, Kuo CJ, Lee HC, Huang SH. Inflammatory markers and their relationships with leptin and insulin from acute mania to full remission in bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2012; 136(1-2): 110-16.

Tsaltas E, Kontis D, Boulougouris V, Papadimitriou GN. Lithium and cognitive enhancement: leave it or take it? *Psychopharmac*. 2009; 202(1-3): 457-76.

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; 32(4): 1064-8.

Van de Rest O, van Hooijdonk LW, Doets E, Schiepers OJ, Eilander A, de Groot LC. B vitamins and n-3 fatty acids for brain development and function: review of human studies. *Ann Nutr Metab.* 2012; 60(4): 272-92.

Veronesi FM, Caliceti P, Schiavon O, Sergi M. Polyethylene glycol–superoxide dismutase, a conjugate in search of exploitation. *Adv Drug Deliver Rev.* 2002; 54(4): 587–06.

Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the antiinflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr Rev.* 2010; 68(5): 280-9.

Walpoth-Niederwanger M, Kemmler G, Grunze H, Wei U, Hörtnagl C, Strau R, Blasko I, Hausmann A. Treatment patterns in inpatients with bipolar disorder at a psychiatric university hospital over a 9-year period: focus on mood stabilizers. *Int Clin Psychopharmacol.* 2012; 27(5): 256-66.

Wang JF, Shao L, Sun X, Young LT. Increased oxidative stress in the anterior cingulate cortex of subjects with bipolar disorder and schizophrenia. *Bipolar Disord.* 2009; 11(5): 523-9.

Wessa M, Kanske P, Linke J. Bipolar disorder: A neural network perspective on a disorder of emotion and motivation. *Restor Neurol Neurosci.* 2013.

Wood JN. Essential fatty acids and their metabolites in signal transduction. *Biochem. Soc. Trans*1990; 18(5): 785-6.

Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Dietary omega-3 fatty acids normalize BDNF levels, reduce oxidative damage, and counteract learning disability after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma.* 2004; 21(10): 1457-67.

Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Docosahexaenoic acid dietary supplementation enhances the effects of exercise on synaptic plasticity and cognition. *Neurosci.* 2008; 155(3): 751-9.

Zarate CA Jr, Singh J, Manji HK. Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2006; 59(11): 1006-20.

Zimmer L, Hembert S, Durand G, *et al.* Chronic n-3 polyunsaturated fatty acid diet-deficiency acts on dopamine metabolism in the rat frontal cortex: a microdialysis study. *Neurosci.* 1998; 240(3): 177-81.

ANEXO A: Parecer de aprovação emitido pela comissão de ética no
uso de animais



Resolução

A Comissão de Ética no Uso de Animais, normatizada pela Resolução n. 02/2011/Câmara Propex de acordo com a Lei Federal 11.794, analisou o projeto abaixo.

Protocolo: 039/2013

Professor Responsável: Emilio Luiz Streck.

Equipe: Lara Mezari Gomes, Camila Sebastião Model e Gabriela Kozuchovski Ferreira.

Título: “Avaliação dos efeitos neuroquímicos e comportamentais da administração de ômega-3 em modelo animal de mania induzido pelo femproporex.”

*Este projeto foi **Aprovado** em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicado a CEUA. Foi autorizada a utilização no total de 594 Ratos Wistar 60 300g. Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos em que constam como pesquisadores. Para demais dúvidas, contatar a CEUA pelo e-mail ceua@unesc.net.*

The animal research Ethics Commitee, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794, has analyzed the following Project:

Protocol number: 039/2013

Principal Investigator: Emilio Luiz Streck.

Researchers: Lara Mezari Gomes, Camila Sebastião Model e Gabriela Kozuchovski Ferreira.

Project title: “Evaluation of neurochemical and behavioral effects with administration of omega-3 in animal model of mania induced by fenproporex.”

*The project was **Approved** is its ethical and methodological aspects. Any alteration of the oriinal version of this project must be previously submitted to the Commitee for further analyzes. May you have further questions, please contact uso n www.unesc.net/propex/ceua or by e-mail: ceua@unesc.net.*

Criciúma, 14 de maio de 2013.

Patricia Fernanda Schuck

Coordenadora da CEUA