

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

JULIANA DOS REIS BASTOS

**A INIBIÇÃO DA RECAPTAÇÃO DE DOPAMINA PELO GBR12909 COMO UM
POSSÍVEL MODELO ANIMAL DE MANIA: ASPECTOS COMPORTAMENTAIS,
FARMACOLÓGICOS E NEUROIMUNOLÓGICOS**

Belo Horizonte

2015

JULIANA DOS REIS BASTOS

**A INIBIÇÃO DA RECAPTAÇÃO DE DOPAMINA PELO GBR12909 COMO UM
POSSÍVEL MODELO ANIMAL DE MANIA: ASPECTOS COMPORTAMENTAIS,
FARMACOLÓGICOS E NEUROIMUNOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício de Araújo Moreira

Co-orientadora: Profa. Dra. Aline Silva de Miranda

Agencia Financiadora: CAPES

Belo Horizonte

2015

043 Bastos, Juliana dos Reis.

A inibição da recaptação de dopamina pelo GBR12909 como um possível modelo animal de mania: aspectos comportamentais, farmacológicos e neuroimunológicos [manuscrito] / Juliana dos Reis Bastos. - 2015.

48 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Fabrício de Araújo Moreira. Co-orientador: Aline Silva de Miranda.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais.

1. Transtorno bipolar - Teses. 2. Mania - Teses. 3. Estabilizadores do humor. 4. Aripiprazol. 5. Dopamina - Teses. 6. Neuroinflamação. 7. Neurociências - Teses. I. Moreira, Fabrício de Araújo. II. Miranda, Aline Silva de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. IV. Título.

CDU: 612.8

“A INIBIÇÃO DA RECAPTAÇÃO DE DOPAMINA PELO GBR12909 COMO UM POSSÍVEL MODELO ANIMAL DE MANIA: ASPECTOS COMPORTAMENTAIS, FARMACOLÓGICOS E NEUROIMUNOLÓGICOS”

JULIANA DOS REIS BASTOS

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada no dia 01 de dezembro de 2015, pela Banca

Examinadora constituída pelos seguintes professores:

PROF^a. DR^a. IZABELA GUIMARÃES BARBOSA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROF. DR. BRUNO REZENDE DE SOUZA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROF^a. DR^a. ALINE SILVA MIRANDA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CO-ORIENTADORA

PROF. DR. FABRÍCIO DE ARAUJO MOREIRA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ORIENTADOR

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG

Belo Horizonte, 01 de dezembro de 2015

À minha família, pelo amor e por sempre apoiar minhas escolhas.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Dr. Fabrício Moreira e Dra. Daniele Aguiar pela acolhida no laboratório, pela preocupação constante com a minha formação e principalmente pela disponibilidade e atenção desde o meu primeiro momento no laboratório.

Agradeço os amigos do LNP que acompanharam de perto a execução desse trabalho. Ana Cristina Oliveira, Dayane Araújo, Jadna Bogado, Jivago Ropke, Júlia Gomes, Luara Batista, Luciano Vilela, Pedro Gobira, Rafael Lima, Rafaela, Rita Oliveira e Thércia Viana: o mestrado não seria tão divertido sem vocês pra alegrarem o laboratório! Obrigada por tornarem o ambiente leve e agradável.

À minha co-orientadora Profa. Aline Miranda, quem conheci já no segundo ano do mestrado, e que contribuiu de forma fundamental nos resultados apresentados aqui. Obrigada pela confiança, dedicação e principalmente por sua preocupação e esforço para que tudo dê certo.

As amigas que conheci na UFMG, mas que são pra toda vida: Isabel Vieira, Thayse Batista, Camila Magalhães, Mariana Camila, Poliana Lima, Jaqueline Mendes, Lorrana Braga e Luciana Gandra: muito obrigada pelos almoços deliciosos, por ouvirem minhas lamentações e principalmente por não me deixarem desanimar quando tudo parecia dar errado. Obrigada pela amizade e carinho que dispensaram desde o começo dessa caminhada. Vocês são sensacionais!

Aos meus pais Julio e Selma, que mesmo sem entender muito bem o que compreende o mestrado, não deixaram de apoiar minhas decisões em nenhum momento. Sei que posso contar com vocês sempre e sou eternamente grata por isso. A minha irmã Simone agradeço a paciência e a todos familiares a compreensão pelos momentos em que estive ausente.

À banca examinadora, pela disponibilidade e atenção dispensada na leitura deste trabalho. Aos funcionários da Pós-graduação em Neurociências e do Departamento de Fisiologia e Farmacologia pela prestatividade e a CAPES pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

RESUMO

O Transtorno Bipolar (TB) é um transtorno psiquiátrico caracterizado pela ocorrência de episódios de mania e de depressão. Seu tratamento farmacológico consiste no uso de estabilizadores do humor, tais como o lítio e o valproato. Além deles, medicamentos antipsicóticos, a exemplo do aripiprazol, vêm sendo utilizado como adjuvantes no tratamento de episódios de mania. No entanto, não há validação de sua eficácia em modelos animais preditivos para fármacos estabilizadores do humor. A inibição do transportador de dopamina pelo GBR12909 foi proposta como modelo animal de mania, uma vez que mimetiza a agitação psicomotora observada em pacientes durante essa fase do TB. Além disso, diversos estudos têm corroborado a ideia de que a neurotransmissão dopaminérgica tem importante papel na fisiopatologia do TB.

Portanto, os objetivos desse trabalho foram: (i) validar o efeito da administração do GBR12909 como modelo preditivo para o comportamento animal do tipo-mania; (ii) quantificar alterações em parâmetros neuroinflamatórios em áreas cerebrais relacionadas aos sintomas apresentados por pacientes bipolares e (iii) testar a hipótese de que o Aripiprazol inibe o efeito comportamental do GBR12909.

A administração de 15 mg/Kg de GBR12909 induziu hiperlocomoção em camundongos Swiss, nos protocolos sem e com habituação, bem como aumento das citocinas IL-4, IL-10 e IL-17 no estriado, de IL-6 e IFN- γ no estriado e no hipocampo e diminuição de IL-6 no córtex pré-frontal, 24 horas após sua administração. Além disso, injeção aguda de Carbonato de Lítio (12,5; 25; 50 e 100 mg/Kg), nas doses mais elevadas, inibiu os efeitos do GBR12909, embora o Valproato de Sódio (75; 150 e 300 mg/Kg) não tenha mimetizado este efeito. Já o Aripiprazol preveniu a hiperlocomoção nas doses de 0,1; 1 e 10 mg/Kg.

Conclui-se que a administração de GBR12909 é um promissor modelo do comportamento tipo-mania, uma vez que é capaz de mimetizar um dos sintomas observados em pacientes durante a fase maníaca e causar alterações neuroinflamatórias relevantes para a fisiopatologia da doença. Além disso, o lítio e o aripiprazol inibem o efeito do GBR12909, em acordo com a sua eficácia nesse transtorno.

Palavras-chave: mania, transtorno bipolar, estabilizadores do humor, aripiprazol, dopamina, neuroinflamação

ABSTRACT

Bipolar disorder (BD) is a psychiatric disorder featured by the occurrence of mania and depression episodes. The pharmacological treatment consists in mood stabilizers, including lithium and valproate. In addition, antipsychotic drugs, such as aripiprazole, have been used as adjuvant therapies in the treatment of maniac episodes. Aripiprazole efficacy, however, has not been validated in animal models predictive for mood stabilizers drugs. The inhibition of dopamine transporter by GBR12909 was recently proposed as an animal model of mania, since it mimics the psychomotor agitation observed in patients undergoing a BD associated maniac episode. Moreover, several studies have been supporting the idea that dopaminergic neurotransmission plays a role in BD pathophysiology.

Therefore, the aims of the current work were: (i) validate the effect of GBR12909 as a predictive model for mania-like behaviour; (ii) quantify alterations in neuroinflammatory parameters in brain areas related to symptoms displayed by bipolar patients and (iii) test the hypothesis that Aripiprazole inhibits the behavioral effects of GBR12909.

GBR12909 administration at 15 mg/kg induces hyperlocomotion in Swiss mice, in the protocols with and without habituation. GBR12909 also leads to an increase in the cytokine IL-4, IL-10 and IL-17 levels in striatum, IL-6 and IFN- γ in striatum and hippocampus and decreased IL-6 levels in prefrontal cortex, 24 hours after administration. Acute lithium carbonate injection (12.5; 25; 50 e 100 mg/kg) inhibited GBR12909 effect at the higher doses, whereas sodium valproate (75; 150 e 300 mg/kg) failed to mimic this effect. Aripiprazol, however, prevented this effect at the doses of 0.1; 1 and 10 mg/kg.

In conclusion, GBR12909 administration seems to be a useful model of mania-like behaviour, since it mimics some changes observed in patients undergoing a mania state and induces neuroinflammatory alterations potentially associated with BD physiopathology.

Moreover, lithium and the antipsychotic aripiprazol inhibit the effect of GBR12909, in agreement with its effectiveness in this disorder.

Palavras-chave: mania, bipolar disorder, mood stabilizers, aripiprazole, dopamine, neuroinflammation

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Efeito do GBR 12909 no campo aberto.

Figura 02: Efeito do GBR 12909 no campo aberto após 10 min de habituação.

Figura 03: Dosagem de citocinas no córtex pré-frontal.

Figura 04: Dosagem de citocinas no estriado.

Figura 05: Dosagem de citocinas no hipocampo.

Figura 06: Efeito do tratamento com carbonato de lítio no campo aberto.

Figura 07: Efeito do pré-tratamento agudo com carbonato de lítio no campo aberto.

Figura 08: Efeito do tratamento com valproato de sódio no campo aberto.

Figura 09: Efeito do pré-tratamento agudo com valproato de sódio no campo aberto.

Figura 10: Efeito do pré-tratamento agudo com aripiprazol no campo aberto.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT1A – receptor serotoninérgico do tipo 1A

5-HT2A - receptor serotoninérgico do tipo 2A

Akt - proteína quinase B

AMPC - Monofosfato cíclico de adenosina

ANOVA - Análise de Variância

BPM - Behavioral Pattern Monitor (Monitor de Comportamento Padrão)

BSA - Bovine Serum Albumine (Soralbumina bovina)

CBA - Cytometric Bead Array

CC - concentração correspondente

CEBIO - Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CXCL10 – quimiocina 10

CXCL11 – quimiocina 11

D2 – receptores dopaminérgicos do tipo D2

DAT KD – nocaute que apresenta 10% do transportador de dopamina

DSM-5 - 5ª edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais

DOPAC - Ácido 3,4-di-hidroxifenilacético

E.P.M - erro padrão da média

EDTA - Ácido etil-diamino-tetra-acético

GBR12909 - dicloridrato sólido

GSK-3 - glicogênio sintase-3

i.p. – intraperitoneal

IFN- γ - Interferon- γ

IL-10 - Interleucina-10

IL-17A - Interleucina-17A

IL-1ra - antagonista do receptor para interleucina-1

IL-2 - Interleucina-2

IL-4 - interleucina-4

IL-6 - interleucina-6

MAO - enzima monoamina oxidase

MFI - intensidade de fluorescência

Na⁺/K⁺-ATPase – bomba sódio-potássio

Na₂HPO₄ – Fosfato dissódico

NaCl – Cloreto de sódio

OMS - Organização Mundial da Saúde

PBS – *Phosphate buffered saline* (Tampão fosfato de sódio)

pg/mL - picograma por mililitro

PMSF - Fluoreto de fenilmetilsufonila

PPI – *prepulse inhibition* (Inibição pré-pulso)

sTNFR1 - receptor solúvel de TNF- α tipo 1

TB - Transtorno Bipolar

TB-I - Transtorno Bipolar tipo I

TB-II - Transtorno Bipolar tipo II

TH1 - Linfócito T *helper* tipo 1

TH2 - Linfócito T *helper* tipo 2

TH7 - Linfócito T *helper* tipo 7

TNF- α - fator de necrose tumoral-alfa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Transtorno Bipolar	9
1.2 Tratamentos disponíveis para o TB	10
1.3 Dopamina e Mania	11
1.4 Dopamina e Sistema Imune	12
1.5 Sistema Imune e o TB	13
1.6 O uso de modelos animais para o estudo da Mania	14
2. OBJETIVOS	18
2.1. Objetivo geral	18
2.2. Objetivos específicos	18
3. MÉTODOS E MATERIAIS	18
3.1 Materiais	18
3.1.1 Animais	18
3.1.2 Drogas	19
3.1.3 Campo Aberto	20
3.2 Métodos	20
3.2.1 Avaliação Comportamental	20
3.2.2 Preparo do homogenato e determinação da concentração de citocinas cerebrais por CBA	21
3.2.3 Análise Estatística	22
4. RESULTADOS	23
4.1 Efeito promovido pela administração de 15 mg/Kg de GBR12909	23
4.2 Efeito promovido pelo GBR 12909 sobre a concentração de citocinas	26
4.3 Efeito promovido pelo carbonato de lítio no campo aberto	30
4.4 Efeito do pré-tratamento agudo com carbonato de lítio sobre a hiperlocomoção induzida por GBR12909	32
4.5 Efeito promovido pelo valproato de sódio no campo aberto	34
4.6 Efeito do pré-tratamento agudo com valproato de sódio sobre a hiperlocomoção induzida por GBR12909	36
4.7 Efeito do pré-tratamento agudo com aripiprazol sobre a hiperlocomoção induzida por GBR12909	38
5. DISCUSSÃO	40
6. CONCLUSÃO	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

1. INTRODUÇÃO

1.1 Transtorno Bipolar

O Transtorno Bipolar (TB) está entre os mais debilitantes dos transtornos psiquiátricos. As classificações atuais da 5ª edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) estabelecem a diferenciação entre o TB tipo I (TB-I) e o TB tipo II (TB-II), e casos com características mistas são descritos no indicador “Outro Transtorno Bipolar e Transtorno Relacionado Especificado” (BRENNER; SHYN, 2014) ([Association, 2014](#)).

O TB-tipo I é caracterizado pela presença de episódios maníacos, hipomaníacos e/ou depressivos. Episódios depressivos são caracterizados pela presença de humor triste, vazio ou irritável ou pela perda de interesse ou anedonia que perdura por pelo menos duas semanas. É acompanhado de alterações somáticas e cognitivas, e podem diferir na duração, momento e etiologia presumida. Os episódios maníacos, por sua vez, são diagnosticados pela presença de humor elevado, expansível ou irritável, com duração mínima de uma semana, associado a três ou mais sintomas auxiliares, que podem ser autoestima elevada, redução da necessidade de sono e agitação psicomotora, dentre outros. A perturbação é suficientemente grave a ponto de causar prejuízo social e, ou profissional.

O TB-tipo II é caracterizado pela presença de episódios hipomaníacos e/ou depressivos. Os episódios hipomaníacos se diferenciam dos maníacos pela menor gravidade dos sintomas, que não constituem um episódio maníaco completo. Alterações de humor com duração mínima de quatro dias consecutivos são incluídas nos episódios hipomaníacos ([Association, 2014](#)).

1.2 Tratamentos disponíveis para o TB

A Organização Mundial da Saúde (OMS) incluiu o carbonato de lítio, o ácido valpróico e a carbamazepina na lista de Medicamentos Essenciais para o tratamento do TB (WHO, 2012). Esses fármacos são chamados de estabilizadores de humor, e são empregados também em casos de mania aguda. Durante décadas, o lítio foi o único fármaco utilizado no tratamento do TB e continua sendo o mais prescrito entre os estabilizadores do humor (THASE; DENKO, 2008), mas devido à baixa responsividade dos pacientes ao tratamento, novas terapias foram sugeridas.

Cinco antipsicóticos atípicos passaram a ser indicados como alternativa para o tratamento da mania aguda, sendo eles: risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona e aripiprazol (YATHAM et al., 2013a). Cabe ressaltar que esses fármacos começaram a ser utilizados para tratar o TB sem que houvesse a verificação prévia em modelos animais da sua eficácia para esses casos (LACERDA; SOARES; TOHEN, 2002). Por terem sido desenvolvidos com outras finalidades, apresentam eficácia limitada para o tratamento do TB e os efeitos adversos podem ser significativos (BRENNER; SHYN, 2014). Fármacos inibidores seletivos da recaptação de serotonina também podem ser indicados para pacientes com quadro de depressão bipolar, como adjuvante a outro estabilizador do humor (YATHAM et al., 2013a).

Considerando-se as limitações desses tratamentos, já que nem todos os pacientes respondem bem ao uso, percebeu-se a necessidade de se identificar novos possíveis alvos farmacológicos para o tratamento do TB (YOUNG; HENRY; GEYER, 2011).

1.3 Dopamina e Mania

Pacientes bipolares podem apresentar sintomas emocionais, cognitivos, comportamentais, autonômicos, neuroendócrinos, imunes e distúrbios circadianos, indicando que não existe uma região cerebral específica afetada, mas que a disfunção ocorre em redes neurais interconectadas (MALETIC; RAISON, 2014). Embora a fisiopatologia do TB ainda não seja bem compreendida, van Enkhuizen e colaboradores, propõem um desbalanço dos sistemas catecolaminérgico-colinérgico como gatilho para o surgimento dos sintomas. Nessa abordagem, baseada em estudos de neuroimagem, farmacológicos, genéticos e em animais, a superregulação do sistema colinérgico implicaria em sintomas depressivos e o aumento da neurotransmissão de norepinefrina e de dopamina acarretariam em mania (VAN ENKHUIZEN et al., 2015).

A participação da dopamina na fisiopatologia da mania tem sido investigada, provavelmente, pelo notável fato de drogas antipsicóticas serem utilizadas com sucesso para tratar os sintomas (THASE; DENKO, 2008, YATHAM et al., 2013b). E, embora estudos de neuroimagem sejam em grande parte inconclusivos, pela dificuldade da realização em pacientes durante a fase maníaca e de estabelecer como o tratamento pode interferir nos resultados (MALETIC; RAISON, 2014), eles também reforçam a ideia da participação de vias dopaminérgicas.

A distribuição das vias dopaminérgicas no cérebro é mais restrita que a da norepinefrina, sendo quatro bem descritas. A via tuberoinfundibular está presente no hipotálamo e regula algumas funções da hipófise anterior. A via nigroestriatal se origina da substância negra *pars compacta* e termina no estriado dorsal, com um papel bem estabelecido no sistema motor. As vias mesolímbica e mesocortical surgem na área ventral tegmental do (ATV), a primeira projeta para o sistema límbico e a segunda para os córtices frontais e

temporais. Essas vias modulam comportamentos como impulsividade e atenção, busca por recompensa, processamento emocional, memória e funções executivas (COUSINS; BUTTS; YOUNG, 2009). Estudos de neuroimagem mostram aumento dos ventrículos e alterações estruturais e funcionais que levam ao comprometimento de vias envolvidas principalmente no controle emocional (MALETIC; RAISON, 2014; STRAKOWSKI et al., 2012). Durante a fase maníaca, especialmente, parece haver uma ativação exacerbada da amígdala (STRAKOWSKI et al., 2012).

1.4 Dopamina e Sistema Imune

A ativação do sistema imune pode afetar o funcionamento cerebral e com isso desencadear alterações comportamentais. Essa resposta imune pode ser originada no próprio cérebro através da ativação da micróglia, tipo celular que possui receptores para diversas citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, ou ter iniciado na periferia e chegado ao cérebro, por diferentes formas. Pela via humoral as citocinas inflamatórias acessam o cérebro através de regiões fenestradas da barreira hematoencefálica, como plexo coroide e órgãos circumventriculares, e são capazes de ativar células endoteliais que, por sua vez, irão ativar segundos mensageiros. Já a via neural consiste na ativação de fibras aferentes primárias no nervo vago, que transmite informação para áreas cerebrais através da ativação do núcleo do trato solitário e área postrema. Por fim, na via celular as citocinas inflamatórias são capazes de estimular a micróglia a produzir proteína quimioatrativa de monócitos-1 (MCP-1), que por sua vez é responsável pelo recrutamento de monócitos no cérebro (CAPURON; MILLER, 2011; MILLER et al., 2013). Em algumas condições patológicas, como convulsões por exemplo, também pode ocorrer entrada de mediadores inflamatórios no cérebro.

O processo inflamatório, originado no cérebro ou não, pode interferir em diversas funções, como regulação da atividade neuroendócrina, na plasticidade neural e ainda alterar a circuitaria cerebral. Em relação ao sistema dopaminérgico, pode ocorrer alteração na síntese, liberação ou recaptção de dopamina, ou na neurotransmissão em áreas como córtex cingulado anterior e nos núcleos da base (CAPURON; MILLER, 2011; MILLER et al., 2013). Além disso, a administração sistêmica em ratos das citocinas pró-inflamatórias IL-1 e IL-6 é capaz de aumentar a concentração de DOPAC (Ácido 3,4-di-hidroxi-fenilacético), um metabólito da dopamina, no córtex pré-frontal, e afetar a relação DOPAC:DA, indicando que essas citocinas aumentam a utilização de dopamina (ZALCMAN et al., 1994).

1.5 Sistema Imune e o TB

A relação entre inflamação e saúde mental vem sendo investigada nas últimas décadas. Especialmente entre os Transtornos do Humor, observou-se que o comportamento depressivo tem semelhanças com alguns dos sintomas apresentados por pacientes acometidos por doenças infecciosas ou câncer, tais como fadiga, letargia, perda de peso, anedonia, alterações no sono, aumento da sensibilidade para dor, entre outros (CAPURON; MILLER, 2011; DANTZER, 2001). Além disso, já se demonstrou que a indução de resposta inflamatória em animais pela injeção de lipopolissacarídeo, por exemplo, também gera um comportamento do tipo-depressivo, que é atenuado pela administração de antidepressivos (OHGI et al., 2013). Esse conjunto de sintomas é conhecido como “comportamento doente” (*sickness behavior*) e está fundamentado na ideia de que esses sintomas estão relacionados ao aumento dos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias (HAROON; RAISON; MILLER, 2012).

Em relação ao TB, diversos indícios suportam a ideia de que a disfunção imunológica exerce papel importante na fisiopatologia da doença. Embora existam resultados divergentes

na literatura, Barbosa e colaboradores demonstraram que pacientes com TB apresentam aumento dos níveis circulantes de interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), receptor solúvel de TNF- α tipo 1 (sTNFR1), interleucina-4 (IL-4), antagonista do receptor para interleucina-1 (IL-1ra), e também das quimiocinas CXCL10, CXCL11 durante a fase maníaca, e de sTNFR1 e CXCL10 durante as fases depressiva e eutimia (fase intermediária entre mania e depressão) (BARBOSA et al., 2014). Esses achados indicam que há um perfil inflamatório permanente em pacientes com TB, que parecem estar exacerbado durante os episódios de humor, principalmente durante o quadro de mania.

1.6 O uso de modelos animais para o estudo da Mania

O TB é uma doença psiquiátrica cuja característica mais marcante é a ciclagem dos estados maníacos, depressivos, e de eutimia, podendo ainda ocorrer o estado com episódios mistos. Essa particularidade torna ainda mais difícil o desenvolvimento de um modelo animal que corresponda ao que é observado em humanos. Entretanto, diversos modelos animais para o estudo dos comportamentos tipo-mania e tipo-depressivo têm sido propostos, a fim de tentar melhor compreender a fisiopatologia desse transtorno (MACHADO-VIEIRA; KAPCZINSKI; SOARES, 2004). E, ainda que exista a distinção entre modelos para o estudo da mania e da depressão isoladamente, cabe ressaltar que nenhum deles irá refletir a diversidade de sintomas observada durante cada fase.

Um bom modelo animal para estudo de desordens psiquiátricas deve atender, ainda que parcialmente, três critérios de validade: de face (ou aparente), de constructo e preditiva. A validade de face é relativa à semelhança entre a sintomatologia e o comportamento observado no animal. A validade de constructo reproduz fatores neurobiológicos desencadeantes do transtorno, de forma consistente com a fundamentação teórica. Já a validade preditiva diz

como o modelo responde aos medicamentos utilizados para o tratamento (KATO; KUBOTA; KASAHARA, 2007; MACHADO-VIEIRA; KAPCZINSKI; SOARES, 2004). Baseado nesses aspectos, modelos animais podem ser classificados como farmacológicos (induzidos pela injeção de drogas), nutricionais (p. ex. alterando a dieta dos animais), genéticos (p. ex. animais nocautes) e ambientais (p. ex. privando os animais de sono).

A atividade locomotora é o parâmetro mais comumente avaliado em modelos animais tipo-mania porque, além de ser facilmente mensurado em roedores, se assemelha a agitação psicomotora vivenciada pelos pacientes (YOUNG; HENRY; GEYER, 2011). Perry e colaboradores identificaram diferenças na exploração do ambiente entre pacientes bipolares e esquizofrênicos utilizando o teste do “Monitor de Comportamento Padrão” (Behavioral Pattern Monitor – BPM), que avalia diferentes aspectos da hiperatividade de forma equivalente em humanos e roedores. Observou-se que pacientes em fase maníaca do TB ou com esquizofrenia gastam mais tempo caminhando e explorando o novo ambiente que os indivíduos saudáveis. Entretanto, somente os indivíduos em mania interagem com os diversos objetos ali dispostos de forma persistente e simultânea. Embora não seja possível estabelecer uma relação direta desses parâmetros com a sintomatologia do TB, eles podem ser relevantes para distinguir o comportamento tipo-mania de outros transtornos psiquiátricos em animais, uma vez que a hiperatividade é avaliada em diversos distúrbios psiquiátricos (PERRY et al., 2010; YOUNG et al., 2007).

Pesquisas utilizando moduladores dopaminérgicos como indutores de comportamentos tipo-mania em animais começaram a ganhar importância devido à validade de constructo, estabelecida pela relação da dopamina e mania, e a validade de face, já que o aumento dos níveis de dopamina cerebrais leva ao aumento da locomoção devido a presença de vias dopaminérgicas em áreas responsáveis pelo comportamento motor. A administração de amfetamina tem sido largamente utilizada como modelo farmacológico do comportamento

tipo-mania. Essas substâncias aumentam os níveis de dopamina na fenda sináptica por impedir a recaptção e por inibir a enzima monoamina oxidase (MAO), que é responsável pela degradação da dopamina, levando ao aumento da agitação psicomotora (VALVASSORI et al., 2013). A validade preditiva desse modelo já é bem estabelecida, sendo inclusive demonstrada em diferentes protocolos experimentais (CECHINEL-RECCO et al., 2012; FREY et al., 2006; GOULD; KEITH; BHAT, 2001; KALINICHEV; DAWSON, 2011). Entretanto, apresenta algumas limitações, sendo a principal delas a sua utilização como modelo de outros transtornos psiquiátricos, incluindo esquizofrenia, abuso de drogas e discinesia tardia (YOUNG; HENRY; GEYER, 2011).

Investigações utilizando o teste do BPM mostraram que animais geneticamente modificados que apresentam apenas 10% dos transportadores de dopamina (DAT KD) e animais em que foi administrado GBR 12909, um inibidor seletivo do transportador de dopamina, exibem atividade exploratória mais semelhante ao observado em pacientes em mania do que animais que receberam anfetamina (PERRY et al., 2009; YOUNG et al., 2007), sugerindo que a diminuição do funcionamento do transportador de dopamina mimetiza com mais fidelidade o que é observado em humanos. Ainda nesse sentido, o mesmo grupo de pesquisadores demonstrou que o efeito induzido pelo GBR12909 não era linhagem-específico e se manteve por 3h após a administração (YOUNG et al., 2010a). Além disso, o perfil exploratório dos animais GBR12909 se mantém mesmo quando os animais estão ambientados ao BPM, mas, o mesmo perfil de resposta não foi observado em DAT KD ambientados, entretanto, a resposta foi recuperada com uma subdose de GBR12909, não efetiva nos animais tipo selvagem e pela exposição a novidade (YOUNG et al., 2010b).

Douma e colaboradores mostraram que animais tratados com GBR12909 têm déficits no teste de inibição pré-pulso (PPI), que avalia a resposta de sobressalto a um estímulo sonoro, que pode estar prejudicado em pacientes TB, reforçando a validade de face do

modelo, mas ainda sem confirmar sua validade preditiva, uma vez que o pré-tratamento com valproato não atenuou a hiperlocomoção induzida pelo GBR12909 (DOUMA et al., 2011). Posteriormente Van Enkhuizen e colaboradores mostraram que o tratamento crônico com valproato é capaz de atenuar a hiperatividade, mas não a exploração ao ambiente (ENKHUIZEN et al., 2012).

Considerando o ainda limitado número de trabalhos utilizando o GBR12909 como indutor do comportamento tipo-mania em animais, objetivamos reproduzir em nosso laboratório os resultados que mostram aumento da locomoção nos animais submetidos à injeção desse composto e avaliar se ele é capaz de alterar a concentração no SNC de citocinas pró e anti-inflamatórias de maneira semelhante ao que é observado em pacientes com TB, confirmando assim as validades de face e de constructo desse modelo. Além disso, investigamos a validade preditiva, utilizando três fármacos indicados para o tratamento da mania aguda: carbonato de lítio, valproato de sódio e aripiprazol.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral do presente estudo foi testar a hipótese de que os efeitos do GBR12909, um inibidor seletivo da recaptação de dopamina, sejam válidos como um modelo animal de mania associada ao TB, conforme verificado por abordagens comportamentais, neuroimunológicas e farmacológicas.

2.2. Objetivos específicos

- A) Verificar se o GBR12909 induz hiperlocomoção em camundongos *Swiss*.
- B) Verificar se o GBR12909 é capaz de alterar a concentração de citocinas no SNC
- C) Testar a hipótese de que o pré-tratamento com carbonato de lítio, valproato de sódio ou Aripiprazol, atenuará a hiperatividade induzida por GBR12909 em camundongos *Swiss*.

3. MÉTODOS E MATERIAIS

3.1 Materiais

3.1.1 Animais

Com a finalidade de minimizar a interferência de fatores hormonais, que poderiam influenciar os resultados, optou-se por utilizar camundongos machos jovens da linhagem *Swiss*,

de 25 a 40 g, fornecidos pelo Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas (CEBIO). Os animais foram mantidos no biotério específico do Departamento de Farmacologia da UFMG, com adequado controle de luz e temperatura, livre acesso à ração e água, e sob ciclo claro-escuro de 12h (luzes acessas às 6h). Todos os procedimentos descritos a seguir foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA-UFMG, sob o número de protocolo 078/2014.

3.1.2 Drogas

Quadro 01: Drogas utilizadas

Droga	GBR 12909 (vanoxerina)	Carbonato de Lítio	Valproato de sódio	Aripiprazol
Nome químico	1-(2-[bis(4-fluorofenil)metoxi]etil)-4-(3-fenilpropil)-piperazina	Carbonato de lítio	2-propilpentanoato de sódio	7-[4-(2,3-diclorofenil)-1-piperazinil]-butoxi]-3,4-dihidro-2(1H)-quinolinona
Fabricante	Sigma Aldrich®	Sigma Aldrich®	Sigma Aldrich®	Bristol-Myers Squibb®
Utilização	Inibidor seletivo do transportador de dopamina; induz hiperlocomoção	Fármaco utilizado no tratamento do TB	Anticonvulsivante, também utilizado como estabilizador do humor	Antipsicótico, agonista parcial de receptores dopaminérgicos tipo D2
Dose (s) utilizada (s) (mg/Kg)	15	12,5 25 50 100	75 150 300	0,01 0,1 1 10
Diluição	Salina estéril seguida de sonicação por aproximadamente 1,5h	4% de Ácido Clorídrico (HCl) e 96% de salina estéril	Salina estéril	5% de Tween 80 e 95% de salina estéril

As soluções foram preparadas imediatamente antes dos experimentos e administradas via intraperitoneal, num volume de 10 ml/Kg

3.1.3 Campo Aberto

O campo aberto consiste em uma arena cilíndrica de acrílico, medindo 30 cm de diâmetro e 40 cm de altura. Os experimentos foram filmados com auxílio de uma câmera de vídeo (Microsoft®) localizada 2,0 metros acima do campo aberto. Simultaneamente, com auxílio do software ANY-MAZE (versão 4.5), a distância total percorrida pelo animal durante o teste foi registrada. No intervalo entre cada animal o campo aberto foi limpo com uma solução de álcool (70%).

3.2 Métodos

3.2.1 Avaliação Comportamental

A fim de caracterizar a hiperlocomoção induzida pelo GBR12909 (15 mg/Kg, i.p), avaliou-se, no campo aberto, o comportamento de camundongos *Swiss* em dois diferentes protocolos experimentais. O primeiro consistiu na exposição ao campo aberto imediatamente após a injeção do GBR12909, no qual o comportamento foi avaliado durante 30 minutos ininterruptos. No segundo protocolo, a droga foi administrada após habituação dos animais por 10 min no campo aberto e o comportamento foi avaliado durante os 20 min seguintes a injeção do GBR12909. A cada experimento um grupo recebeu salina como controle.

O carbonato de lítio e o valproato de sódio tiveram as doses previamente avaliadas isoladamente (isto é, sem administração do GBR12909) no campo aberto durante 30 min, a fim de verificar se elas interfeririam no comportamento basal dos animais, comparados ao controle salina. Respeitou-se sempre o tempo necessário para ação de cada uma, ou seja, o intervalo entre a administração e a exposição ao campo aberto, conforme descrição a seguir.

O objetivo dos pré-tratamentos foi avaliar quais drogas e em quais doses seriam capazes de prevenir os efeitos promovidos pelo GBR12909. O carbonato de lítio foi testado como pré-tratamento nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/Kg administradas 20 min antes da injeção de GBR12909 ou salina. Já o valproato de sódio e o aripiprazol foram administrados 30 min antes da injeção de GBR12909 ou salina, e as doses utilizadas foram 75; 150 e 300 mg/Kg e 0,01; 0,1; 1 e 10 respectivamente. Após a administração de GBR12909 ou salina utilizou-se o mesmo protocolo para todos os grupos, ou seja, o comportamento foi avaliado por 30 min ininterruptos após a injeção, sem período de habituação à arena. Todas as drogas foram administradas pela via intraperitoneal.

3.2.2 Preparo do homogenato e determinação da concentração de citocinas cerebrais por CBA

Vinte e quatro horas após a injeção, animais tratados com GBR12909 e controles foram anestesiados pela via intraperitoneal com xilazina, cetamina e PBS, na proporção de 1:3:4 mL, respectivamente. Em seguida, foram decapitados e tiveram o córtex pré-frontal, estriado e hipocampo dissecados e armazenados no freezer à -80°C até o dia do processamento das amostras. Posteriormente, as amostras foram pesadas (100 mg) e colocadas em 1,0 mL de solução inibidora de proteases para extração de citocinas [NaCl 0,4 M; Tween 20 0,05%; Albumina de soro bovino (BSA) 0,5%; Fluoreto de fenilmetilsufonila (PMSF) 0,1mM; cloreto de benzetônio 0,1 mM; EDTA 10 mM; 20 UI de aprotinina], preparada a partir de uma solução de tampão fosfato (NaCl 8 g, KCl 0,2 g e Na₂HPO₄.12H₂O 2,89g diluídos em 1 litro). As amostras foram maceradas em um homogenizador de tecidos (Power Gen 125, Fisher Scientific Pennsylvania, EUA) a uma velocidade ótima e a solução resultante foi centrifugada a 10.000 r.p.m, a 4°C, por 10 minutos

(Centrífuga BR4, Jouan, Winchester, VA, EUA). O sobrenadante foi recolhido, aliquotado e estocado a -80°C até a sua utilização para detecção da concentração das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17 TNF- α e IFN- γ por meio da técnica de CBA (*Cytometric Bead Array*). Os Kits de CBA TH1/TH2/TH7 obtidos da BD Biosciences, foram utilizados de acordo com os procedimentos previamente descritos pelo fabricante e a concentração dos mediadores inflamatórios foi determinada por leitura no instrumento FACSCanto II (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). Os dados obtidos foram convertidos da média de intensidade de fluorescência (MFI) para concentração correspondente (CC), e estão expressos em picograma por mililitro (pg/mL).

3.2.3 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio do software Prism5[®] (GraphPad, La Jolla, CA, USA) para Windows. Para análise da normalidade utilizou-se o teste *Smirnov-kolmogorov*. Nas análises da distância total percorrida e das concentrações de citocinas, utilizou-se Test T *student*, para comparar dois grupos, e o teste *One Way Anova* seguido do pós-teste de Bonferroni quando mais que dois grupos estavam presentes. Assumiu-se que o nível de significância seria p menor que 0.05 para todos os casos e os resultados estão representados como média \pm erro padrão da média (E.P.M). Nas análises minuto-a-minuto utilizou-se *Two Away ANOVA* seguida do pós-teste de Bonferroni e os dados estão expressos como média \pm EPM por minuto ou blocos de 5 minutos. Em alguns gráficos de linhas, apenas a média é apresentada, a fim de possibilitar maior clareza na visualização.

4. RESULTADOS

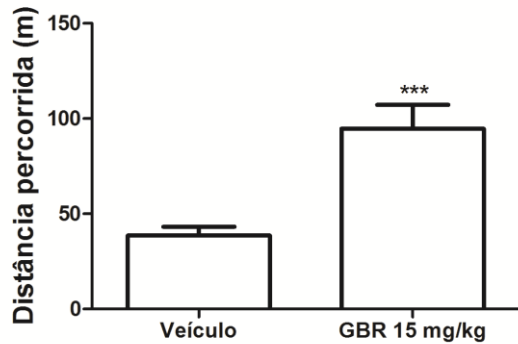
4.1 Efeito promovido pela administração de 15 mg/Kg de GBR12909

O teste T não pareado mostrou que o GBR 12909 aumentou significativamente a distância percorrida no campo aberto durante os 30 min do teste [$t(21) = 4.092$; *** $p = 0,0005$] (**Fig. 1A**). A análise por minuto mostrou que, em relação ao grupo controle, os animais GBR andaram mais, diferença que é significativa após dez minutos [Efeito da droga: $F(1, 21) = 16,74$; *** $p = 0,0005$. Efeito do tempo: $F(29, 21) = 5,491$; *** $p < 0,0001$; Interação: $F(29, 21) = 3,726$; *** $p < 0,0001$] (**Fig. 1B**). A **Figura 1C** mostra o mesmo resultado de B, em intervalos de 5 minutos [Efeito da droga: $F(1, 21) = 17,57$; *** $p = 0,0004$. Efeito do tempo: $F(6, 21) = 12,05$; *** $p < 0,0001$. Interação: $F(6, 21) = 3,107$; ** $p = 0,0071$].

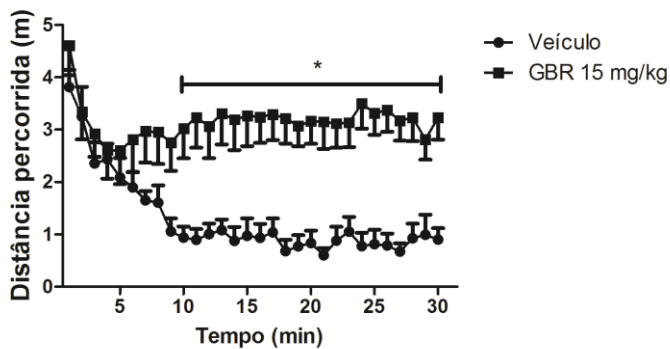
O aumento da locomoção também foi observado quando a injeção de GBR se deu após a habituação dos animais por 10 min no campo aberto [$t(20) = 7.085$; *** $p < 0,0001$] (**Fig 2A**). No final dos 10 minutos de habituação todos os animais apresentaram níveis baixos de locomoção, perfil que mudou no grupo GBR, após a injeção da droga [Efeito da droga: $F(1, 20) = 31,90$; *** $p < 0,0001$; Efeito do tempo: $F(29, 20) = 27,79$; *** $p < 0,0001$; Interação: $F(29, 20) = 8,945$; *** $p < 0,0001$] (**Fig 2B**). A **Figura 2A** mostra a distância total percorrida após a administração de GBR, ou seja, a soma da distância percorrida no intervalo entre 11 e 30 minutos mostrados na **Figura 2B**. A **Figura 2C** mostra a distância percorrida durante a habituação e após a administração de GBR, em intervalos de 5 minutos [Efeito da droga: $F(1, 20) = 17,61$; *** $p = 0,0004$. Efeito do tempo: $F(6, 20) = 42,02$; *** $p < 0,0001$. Interação: $F(6, 20) = 10,57$; *** $p < 0,0001$].

Como a dose testada foi efetiva nos dois testes, utilizou-se a mesma nos experimentos seguintes, mantendo o protocolo sem habituação.

A



B



C

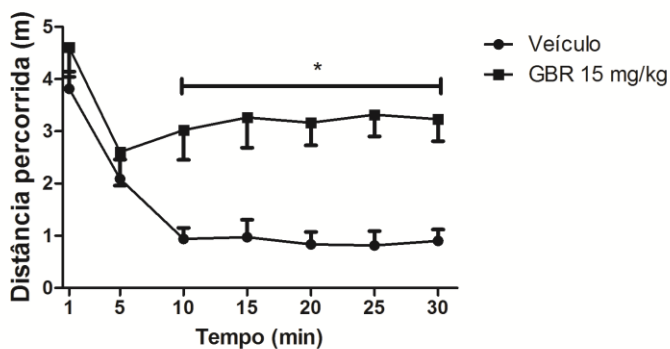
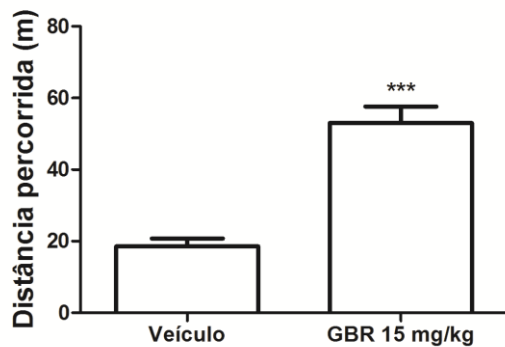
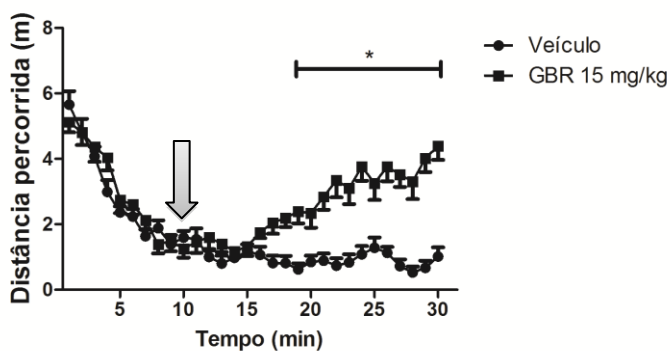


Figura 01. Efeito do GBR12909 no campo aberto. **A:** Distância total percorrida em 30 minutos. Os dados representam a média \pm EPM dos grupos veículo (salina) e GBR 15mg/Kg, $n = 11$ e 12 respectivamente. $t(21) = 4,092$; *** $p = 0,0005$. Teste t não pareado. **B:** Distância percorrida minuto a minuto. Os pontos representam a média \pm EPM por minuto dos grupos veículo e GBR 15mg/Kg, $n = 11$ e 12 , respectivamente. Efeito da droga: $F(1, 21) = 16,74$; *** $p = 0,0005$; Efeito do tempo: $F(29,21) = 5,491$; *** $p < 0,0001$; Interação: $F(29,21) = 3,726$; *** $p < 0,0001$. *Two Away ANOVA* com pós-teste de Bonferroni. **C:** Distância percorrida a cada 5 minutos. Os pontos representam as médias \pm EPM dos grupos veículo e GBR 15mg/Kg, $n = 11$ e 12 , respectivamente. Efeito da droga: $F(1, 21) = 17,57$; *** $p = 0,0004$. Efeito do tempo: $F(6, 21) = 12,05$; *** $p < 0,0001$. Interação: $F(6, 21) = 3,107$; ** $p = 0,0071$. *Two Away ANOVA* com pós-teste de Bonferroni.

A



B



C

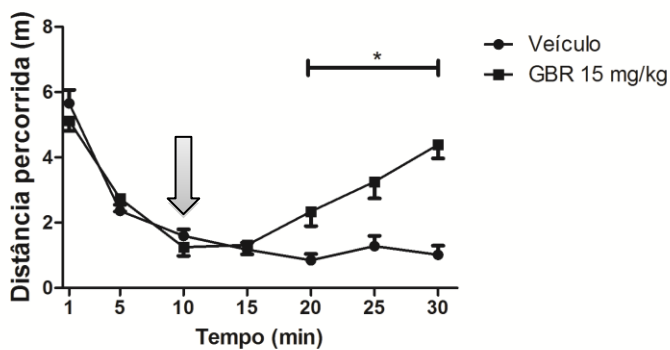


Figura 02: Efeito do GBR12909 após 10 min de habituação. **A:** Distância total percorrida entre 11 e 30 minutos (após a injeção de GBR). Os dados representam a média \pm EPM dos grupos veículo e GBR 15mg/Kg [$t(20) = 7.085$; *** $p < 0,0001$; Teste t não pareado]. **B:** Distância percorrida minuto a minuto. Os pontos representam a média \pm EPM por minuto dos grupos veículo e GBR 15mg/Kg. [Efeito da droga: $F(1, 20) = 31,90$; *** $p < 0,0001$; Efeito do tempo: $F(29, 20) = 27,79$; *** $p < 0,0001$; Interação: $F(29, 20) = 8,945$; *** $p < 0,0001$; ANOVA de duas vias com pós-teste de Bonferroni]. **C:** Distância percorrida a cada 5 minutos. Os pontos representam as médias \pm EPM dos grupos veículo e GBR 15mg/Kg [Efeito da droga: $F(1, 20) = 17,61$; *** $p = 0,0004$; Efeito do tempo: $F(6, 20) = 42,02$; *** $p < 0,0001$; Interação: $F(6, 20) = 10,57$; *** $p < 0,0001$; ANOVA de duas vias com pos-teste de Bonferroni]. $n = 12$ grupo veículo e $n = 10$ grupo GBR. As setas indicam o momento em que GBR 15mg/Kg foi administrada (10 min.).

4.2 Efeito promovido pelo GBR 12909 sobre a concentração de citocinas

A dosagem de citocinas realizada com amostras dissecadas 24 horas após a administração de GBR12909 revelou diminuição significativa de IL-6 no córtex pré-frontal [$t(9) = 3.768$; ** $p = 0,0044$] (**Fig. 3**).

Houve aumento significativo dos níveis de IL-4, IL-10 e IL-17 no estriado [$t(10) = 3.190$; ** $p = 0,0097$; $t(10) = 2.665$; * $p = 0,0237$; $t(10) = 2.822$ * $p = 0,0181$, respectivamente] (**Fig. 4**).

Houve ainda aumento significativo no estriado e hipocampo de IL-6 [estriado: $t(10) = 6.248$; *** $p < 0.0001$ e hipocampo $t(10) = 2.377$; * $p = 0,0388$] e de IFN- γ [estriado $t(10) = 5.723$; *** $p = 0,0002$ e Hipocampo $t(10) = 2.300$; * $p = 0,0442$] (**Fig. 4 e 5**).

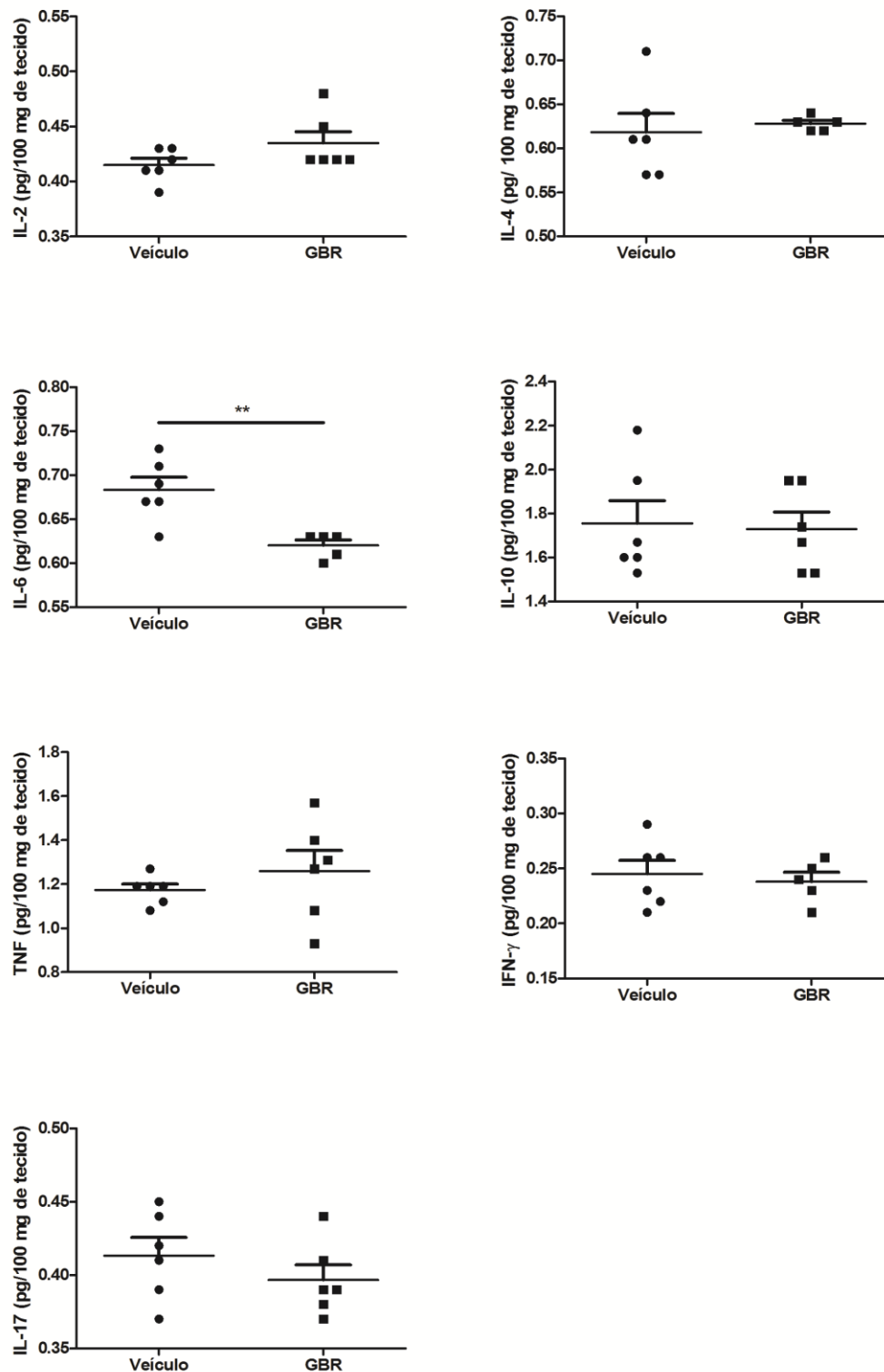


Figura 03: Dosagem de citocinas no Córtex Pré-frontal 24 horas após indução de hiperlocomoção por GBR12909. Houve diminuição dos níveis de IL-6 no córtex pré-frontal dos animais que receberam o GBR12909 (n=6) quando comparado com aqueles que receberam o veículo (n=5). Teste T não pareado; ** p = 0,0044.

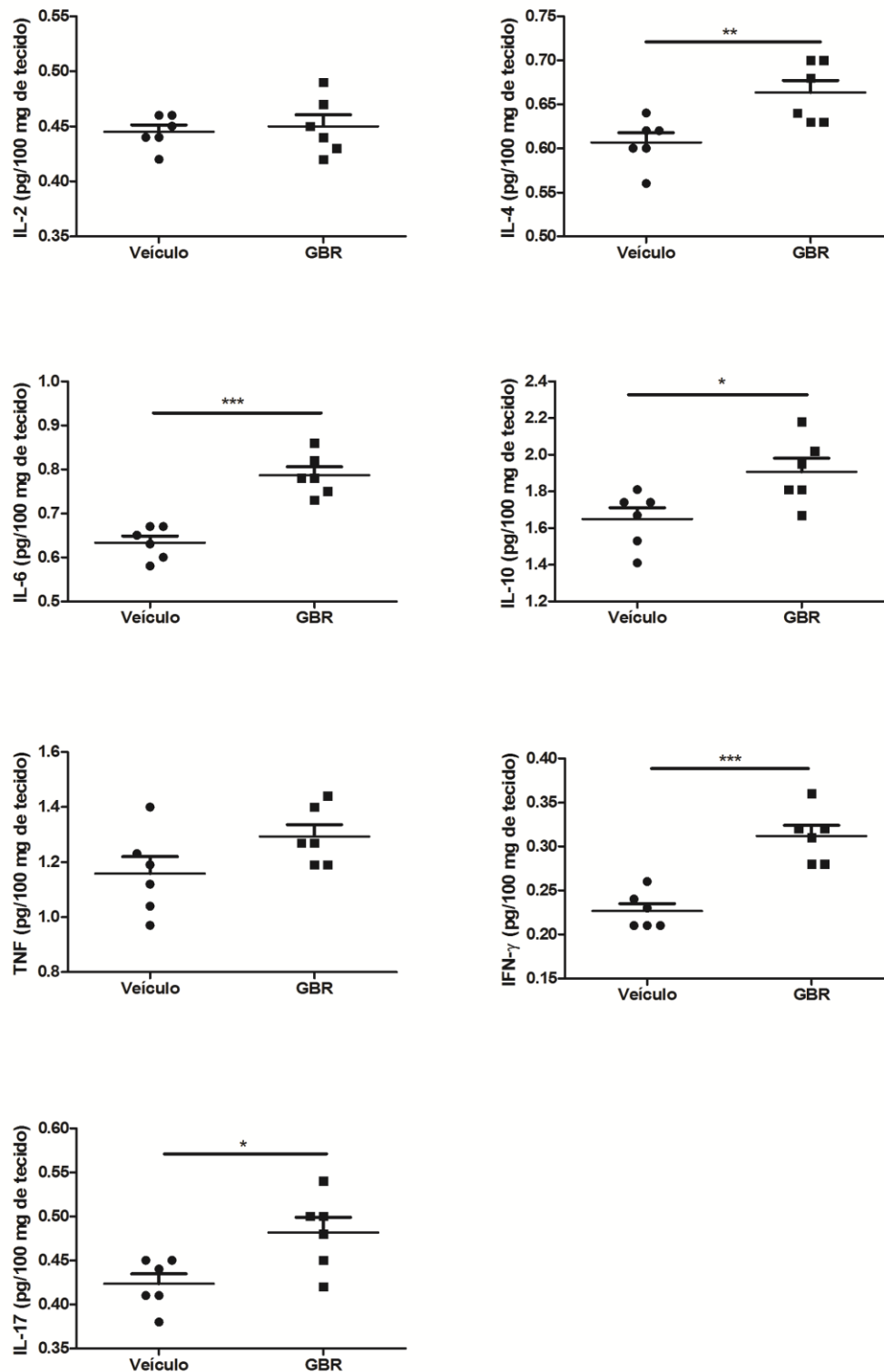


Figura 04: Dosagem de citocinas no Estriado 24 horas após indução de hiperlocomção por GBR12909.

Houve aumento nos níveis de IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ e IL-17 no estriado dos animais que receberam o GBR12909 (n=6) quando comparado com aqueles que receberam o veículo (n=6). Teste T não pareado; * p < 0,05; ** p < 0,001; *** p < 0,0001.

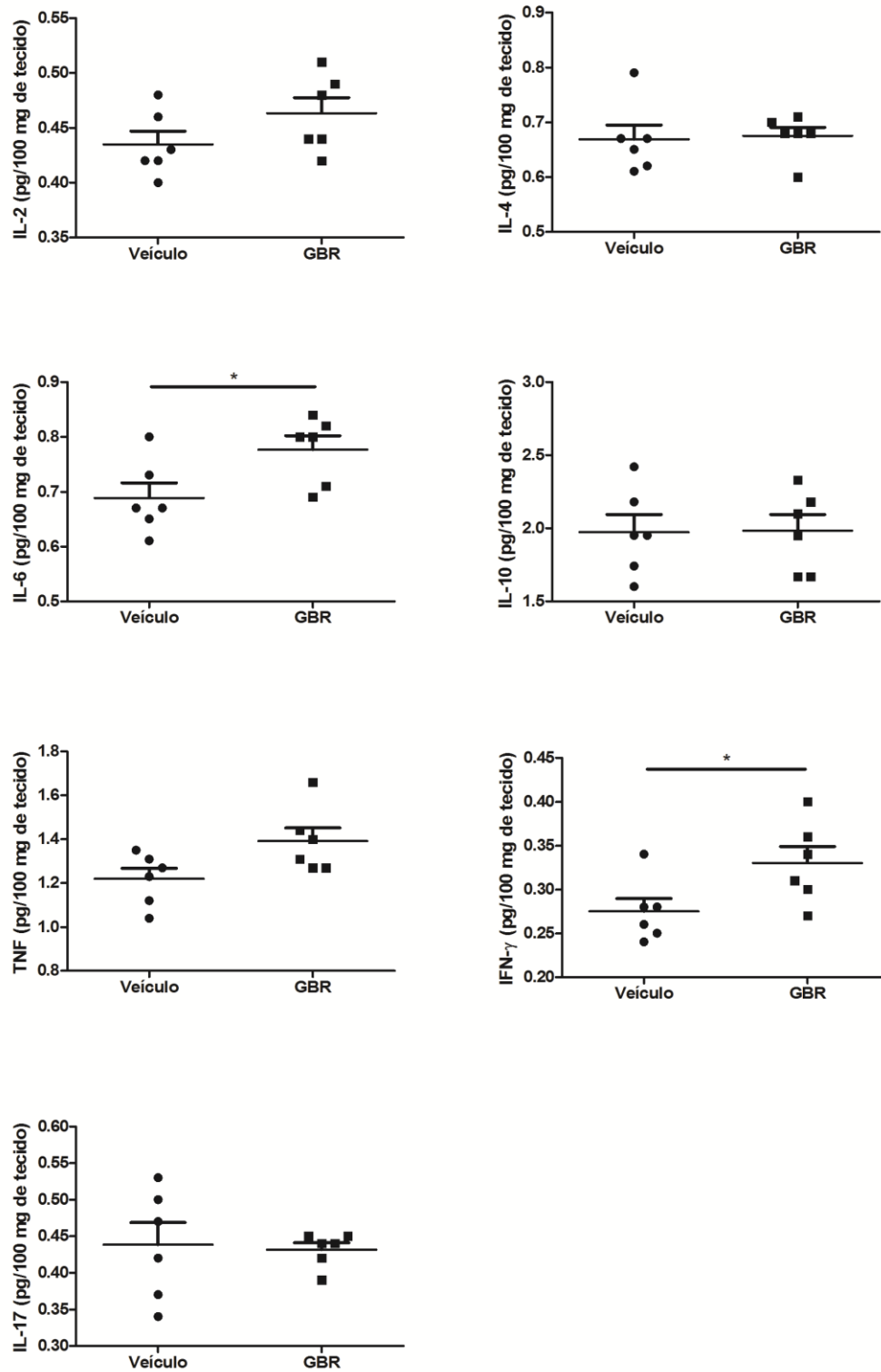


Figura 05: Dosagem de citocinas no Hipocampo 24 horas após indução de hiperlocomção por GBR12909.

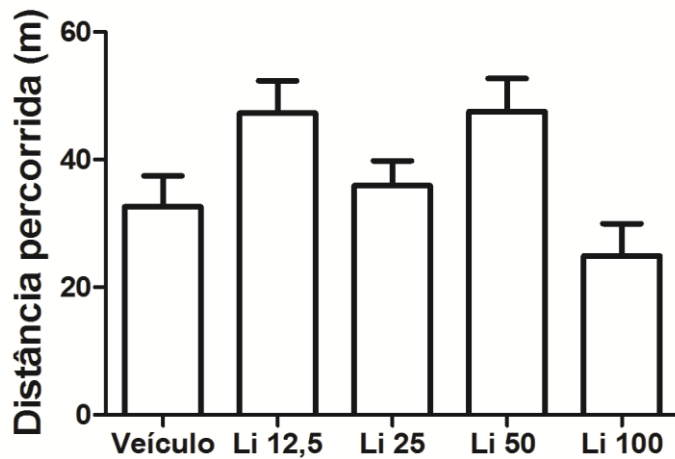
Houve aumento nos níveis de IL-6 e IFN- γ no hipocampo dos animais que receberam o GBR12909 (n=6) quando comparado com aqueles que receberam o veículo (n=6). Teste T não pareado; * p < 0,05.

4.3 Efeito promovido pelo carbonato de lítio no campo aberto

A ANOVA de uma via revelou diferença na distância percorrida pelos animais tratados com as quatro doses testadas de carbonato de lítio (12,5; 25; 50 e 100 mg/Kg) [F (4, 39) = 3,727; * p = 0,0116] (**Fig. 6A**). Entretanto, o pós-teste de Bonferroni não revelou diferença nas doses testadas em relação ao grupo controle.

A Figura 6B expressa a distancia percorrida em intervalos de 5 minutos. O teste ANOVA de duas vias mostra que há diferença dos grupos em relação ao controle durante o início do teste [F (4,39) = 3,825; * p = 0,0102] (**Fig. 6B**).

A



B

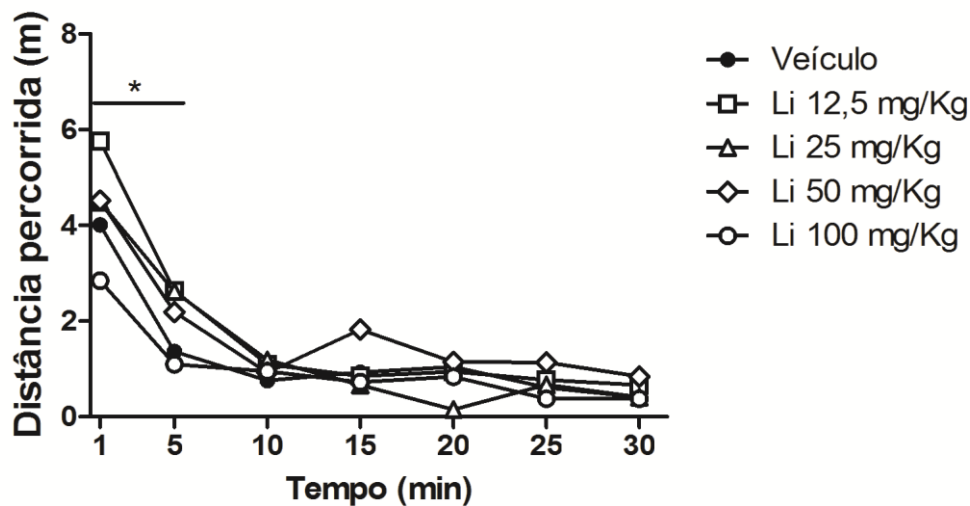


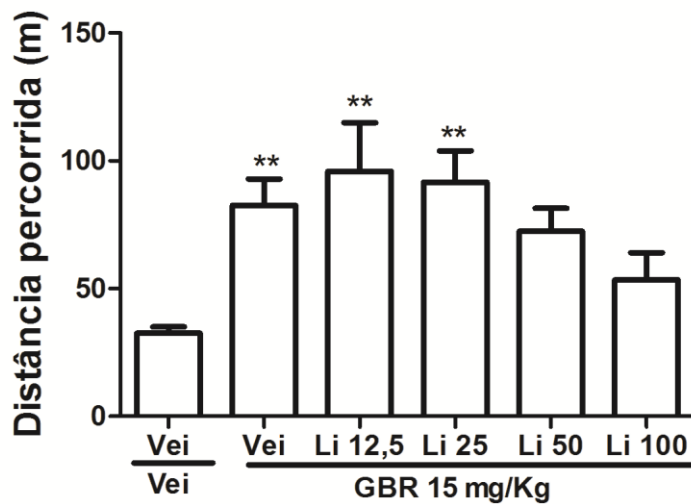
Figura 06: Efeito do carbonato de lítio no campo aberto. A: Distância total percorrida em 30 minutos. Os dados representam a média \pm EPM dos grupos veículo (salina), Lítio 12,5 mg/Kg; 25 mg/Kg; 50 mg/Kg e 100 mg/Kg; $n = 8-12/\text{grupo}$. $F(4, 39) = 3,727$; $*p = 0,0116$. Anova de uma via e pós-teste de Bonferroni. **B:** Distância percorrida minuto a minuto. Os pontos representam a média por minuto dos mesmos grupos mostrados em A. Efeito da droga: $F(4, 39) = 3,825$; $*p = 0,0102$; Efeito do tempo: $F(6, 39) = 90,20$; $***p < 0,0001$; Interação: $F(24, 39) = 2,221$; $***p = 0,0013$. ANOVA de duas vias com pós-teste de Bonferroni.

4.4 Efeito do pré-tratamento agudo com carbonato de lítio sobre a hiperlocomoção induzida por GBR12909

O teste ANOVA de uma via detectou diferença entre as médias dos grupos controle, GBR e as doses de carbonato de lítio testadas como pré-tratamento [$F(5, 73) = 5,006$; *** $p = 0,0005$]. Entretanto, somente os grupos veículo + GBR, Li 12,5 + GBR e Li 25 + GBR diferiram do grupo controle (salina + salina). As doses de 50 e 100 mg/Kg atenuaram o efeito do GBR (**Fig. 7A**).

A análise a cada 5 minutos mostra que a distância percorrida pelos animais pré-tratados com as doses de 50 e 100 mg/Kg de carbonato de lítio permaneceram entre a do grupo controle e do grupo GBR durante a maior parte do tempo [Efeito da droga: $F(5, 73) = 4,740$; *** $p = 0,0008$; Anova de duas vias e pós-teste de Bonferroni] (**Fig. 7B**).

A



B

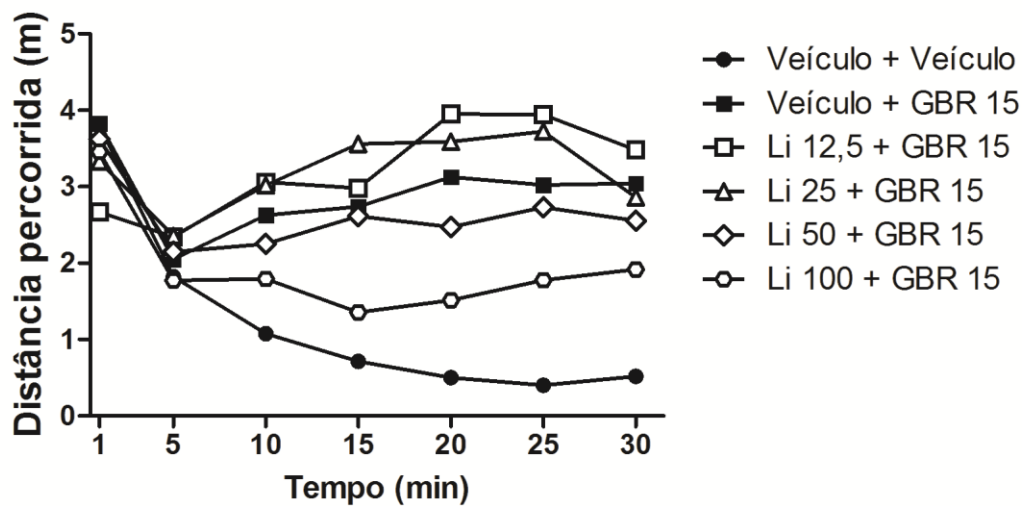


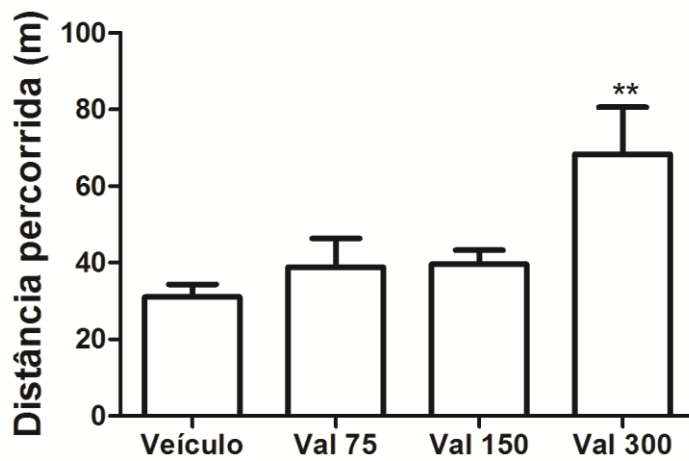
Figura 07: Efeito do pré-tratamento agudo com carbonato de lítio. A: Distância total percorrida em 30 minutos. Os dados representam a média \pm EPM dos grupos veículo, Lítio 12,5; 25; 50 e 100 mg/Kg seguidos da injeção intraperitoneal de GBR 15 mg/Kg; $n = 9-18/\text{grupo}$. $F(5, 73) = 5,006$; $*** p = 0,0005$, ANOVA de uma via seguida de pós-teste de Bonferroni. **B:** Distância percorrida minuto a minuto. Os pontos representam a média por minuto dos mesmos grupos mostrados em A. Interação $F(30, 73) = 4,448$; $*** p < 0,0001$; efeito do tempo $F(6, 73) = 11,97$; $*** p < 0,0001$; efeito da droga $F(5, 73) = 4,740$; $*** p = 0,0008$. Anova de duas vias e pós-teste de Bonferroni.

4.5 Efeito promovido pelo valproato de sódio no campo aberto

As doses testadas de valproato de sódio não alteraram a distância total percorrida em relação ao grupo controle nas doses de 75 e 150 mg/Kg. Entretanto, na dose de 300 mg/Kg o teste ANOVA detectou aumento da locomoção dos animais durante os 30 minutos observados [$F(3,28) = 4,929$; ** $p = 0,0071$] (**Fig. 8A**).

Na figura **8B** observa-se que a distância percorrida pelos animais tratados com a maior dose de Valproato de sódio é maior durante os primeiros 15 minutos do teste, em relação ao grupo controle [Efeito droga $F(3, 28) = 3,549$; * $p = 0,0270$].

A



B

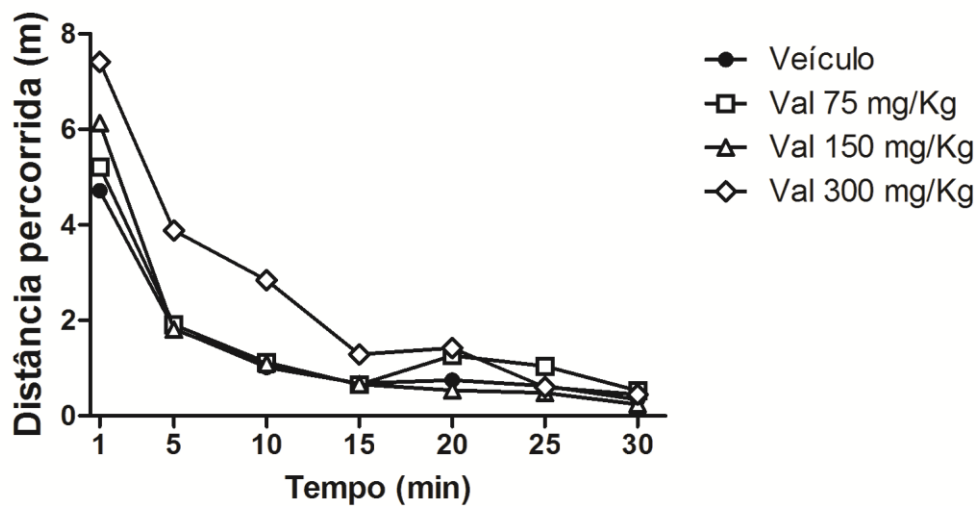


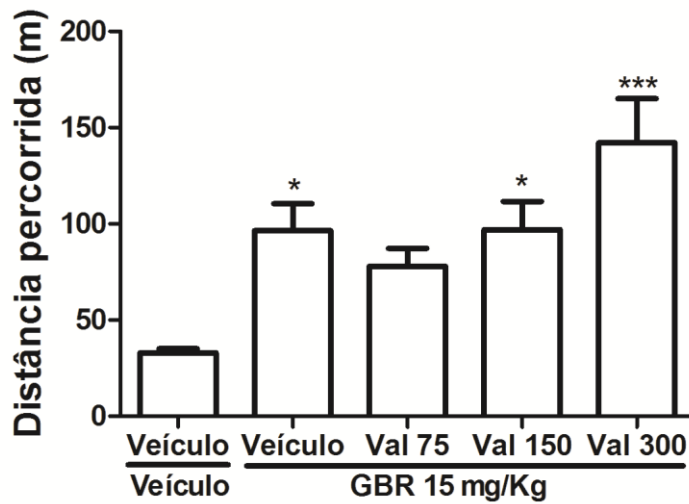
Figura 08: Efeito do valproato de sódio no campo aberto. A: Distância total percorrida durante 30 minutos. Os dados representam média \pm EPM dos grupos veículo, valproato 75, 150 e 300 mg/Kg; $n = 7-9/\text{grupo}$, $F(3, 28) = 4,929$; $** p = 0,0071$. Anova de uma via e pós-teste de Bonferroni. **B:** Distância percorrida minuto a minuto. Os pontos representam a média por minuto dos mesmos grupos mostrados em A. Interação $F(18, 28) = 1,852$; $* p = 0,0231$, Efeito tempo $F(6, 28) = 93,52$; $*** p < 0,0001$, Efeito droga $F(3, 28) = 3,549$; $* p = 0,0270$. Anova de duas vias e pós-teste de Bonferroni.

4.6 Efeito do pré-tratamento agudo com valproato de sódio sobre a hiperlocomoção induzida por GBR12909

Pelo teste ANOVA houve diferença entre as médias da distância percorrida dos grupos [F (4, 45) = 7,232; *** p = 0,0001] (**Fig. 9A**). Entretanto, o pós-teste de Bonferroni não detectou diferença entre o grupo pré-tratado com valproato de sódio na dose de 75 mg/Kg + GBR e o grupo controle.

Na figura **9B** observamos que o grupo tratado com valproato de sódio na dose de 300 mg/Kg e GBR percorre distância maior do que o grupo em que foi administrado somente GBR [F (4, 45) = 6,476; *** p = 0,0003] (**Fig. 9B**).

A



B

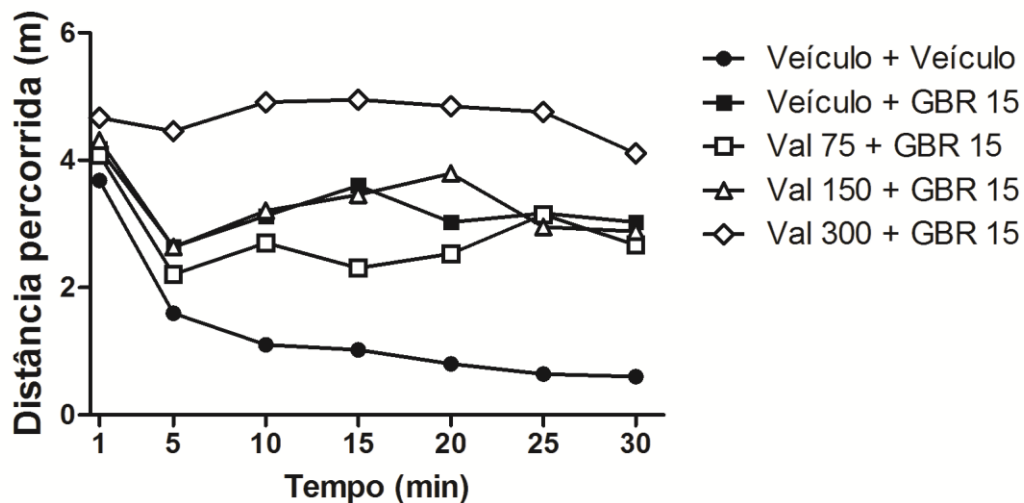


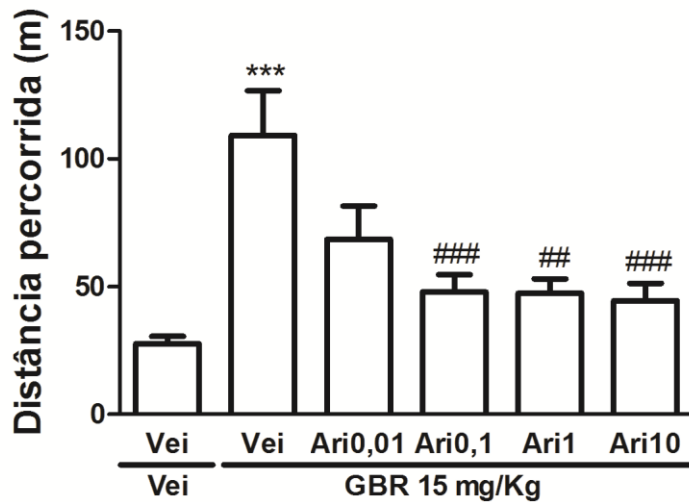
Figura 09: Efeito do pré-tratamento agudo com valproato de sódio. A: Distância total percorrida em 30 minutos. Os dados representam a média \pm EPM dos grupos veículo, valproato de sódio 75, 150 e 300 mg/Kg seguidos da injeção intraperitoneal de GBR 15 mg/Kg; $n = 9-11/\text{grupo}$. $F(4, 45) = 7,232$; $*** p = 0,0001$, ANOVA de uma via seguida de pós-teste de Bonferroni. **B:** Distância percorrida minuto a minuto. Os pontos representam a média por minuto dos mesmos grupos mostrados em A. Interação $F(24, 45) = 2,042$; $** p = 0,0035$, Efeito tempo $F(6, 45) = 11,26$; $*** p < 0,0001$, Efeito droga $F(4, 45) = 6,476$; $*** p = 0,0003$. Anova de duas vias e pós-teste de Bonferroni.

4.7 Efeito do pré-tratamento agudo com aripiprazol sobre a hiperlocomoção induzida por GBR12909

O ANOVA de uma via mostra que a injeção intraperitoneal de aripiprazol nas doses de 10, 1 e 0,01 mg/Kg revertem a hiperlocomoção induzida por 15 mg/Kg de GBR 12909. Entretanto, a dose de 0,001 mg/Kg não foi capaz de reverter o efeito do GBR [F (5, 42) = 9,066; *** p < 0.0001] (Fig. 10A).

O gráfico que expressa a distância percorrida a cada 5 minutos mostra que todas as doses testadas como pré-tratamento permanecem entre o grupo controle e o GBR. Somente a menor dose testada de aripiprazol não difere do grupo controle e do grupo em que foi administrado o GBR12909 [Efeito droga F (5, 42) = 8,499; *** p < 0.0001] (**Fig. 10B**).

A



B

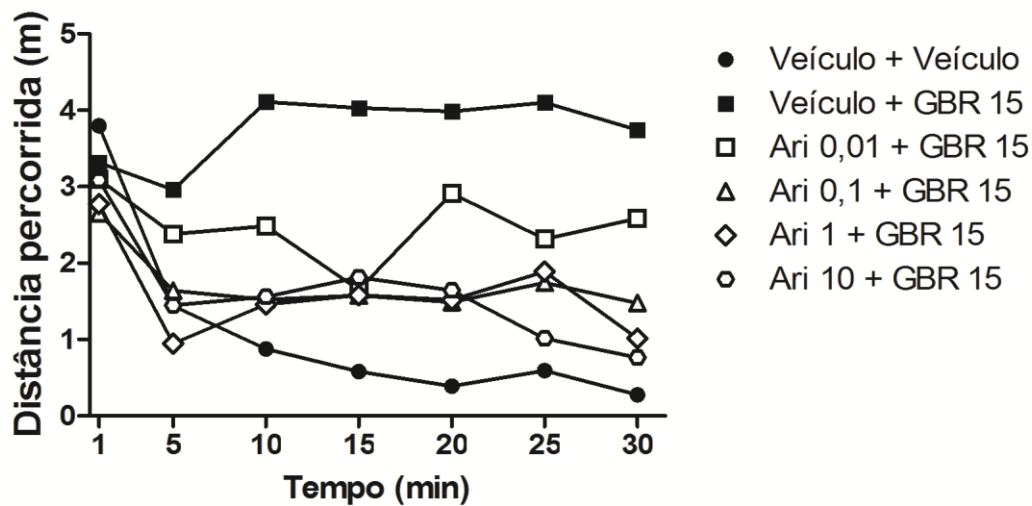


Figura 10: Efeito do pré-tratamento agudo com aripiprazol. A: Distância total percorrida em 30 minutos. Os dados representam a média \pm EPM dos grupos veículo, aripiprazol 0,01; 0,1; 1 e 10 mg/Kg seguidos da injeção intraperitoneal de GBR 15 mg/Kg; $n = 7-10/\text{grupo}$. $F(5, 42) = 9,066$; $*** p < 0.0001$, ANOVA de uma via seguida de pós-teste de Bonferroni. **B:** Distância percorrida minuto a minuto. Os pontos representam a média por minuto dos mesmos grupos mostrados em A. Interação $F(30, 42) = 3,780$; $*** p < 0.0001$; Efeito tempo $F(6, 42) = 15,19$; $*** p < 0.0001$; Efeito droga $F(5, 42) = 8,499$; $*** p < 0.0001$. Anova de duas vias e pós-teste de Bonferroni.

5. DISCUSSÃO

A inibição do transportador de dopamina pela administração aguda de GBR12909 promove o aumento da locomoção em animais, acompanhado pelo aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias no estriado e hipocampo, e esse comportamento é prevenido pela administração aguda do antipsicótico aripiprazol.

A hiperatividade é um dos sintomas observados em pacientes bipolares durante a fase maníaca (YOUNG et al., 2007) e por isso é utilizado como parâmetro de avaliação em diversos modelos de TB (YOUNG; HENRY; GEYER, 2011). Nosso resultado é condizente com trabalhos anteriores que avaliaram esse comportamento após a administração de GBR12909 em diferentes linhagens de camundongos (QUEIROZ et al., 2015; VAN ENKHUIZEN et al., 2015b; YOUNG et al., 2010a). Cabe ressaltar que a dose utilizada aqui foi baseada em trabalhos publicados antes do início dos experimentos (PERRY et al., 2009; YOUNG et al., 2007, 2010a, 2010b).

A distância percorrida pelos animais em que o GBR12909 foi administrado é maior, em relação ao grupo controle, durante todo intervalo de tempo observado, ainda que a diferença estatística apareça somente após os 10 minutos (Fig. 1B e C). Isso provavelmente acontece porque, nos primeiros 10 minutos, tanto o grupo controle quanto o GBR12909 estão se habituando ao novo ambiente e, assim, explorando mais o campo aberto. Para confirmar essa hipótese, testamos um novo protocolo, em que somente após 10 minutos de habituação ao campo aberto os animais recebem injeção. Observamos que, ao final dos 10 minutos de habituação, não há diferença entre os grupos na distância percorrida. Porém, após a administração do GBR12909, a distância percorrida pelos animais passa a aumentar gradativamente, minuto a minuto, tornando-se diferente do perfil apresentado pelo grupo controle (Fig 1A, B e C). Esse resultado é condizente com o trabalho de Young e

colaboradores, em que o efeito de GBR12909 foi observado mesmo em animais já familiarizados ao BPM (YOUNG et al., 2010b).

Nos últimos anos tem-se explorado a existência de um possível perfil inflamatório no TB. Atentos a esse fato, investigamos se a injeção aguda de GBR12909 seria capaz de induzir uma resposta inflamatória nos animais. Escolhemos o córtex pré-frontal, estriado e hipocampo como estruturas de interesse diante da importância que possuem para a sintomatologia do TB. Ainda que não tenhamos mensurado a locomoção antes do sacrifício dos animais 24h depois, Queiroz e colaboradores demonstraram que o efeito do GBR12909 na locomoção é mantido após esse período, utilizando inclusive uma dose menor, de 10 mg/Kg (QUEIROZ et al., 2015).

Nossos resultados mostraram aumento da concentração das citocinas inflamatórias, IL-6, IL-17 e IFN- γ e das regulatórias IL-4 e IL-10, especialmente no estriado. Dentre as citocinas avaliadas, destaca-se IL-6, que está alterada nas três regiões avaliadas, sendo que houve diminuição dos níveis no córtex pré-frontal e aumento no estriado e hipocampo. De maneira interessante, Zalcman e colaboradores já demonstraram que a administração de IL-6 é capaz de aumentar locomoção por si e também a sensibilização à anfetamina (ZALCMAN; SAVINA; WISE, 1999). Além disso, animais knockout para IL-6 exibem proteção a neurotoxicidade induzida por metanfetamina (LADENHEIM et al., 2000). Embora não tenhamos avaliados outros parâmetros que permitiriam elucidar os mecanismos dessa resposta, é possível que os presentes resultados se expliquem pela existência de uma resposta protetora ao aumento dos níveis de dopamina circulante.

Nossos resultados são semelhantes ao observado após a administração crônica de d-anfetamina em ratos Wistar, que mostrou aumento de IL-4, IL-6 e TNF- α no córtex pré-frontal e no estriado, resultado que foi revertido pelo tratamento com lítio (VALVASSORI et al., 2015). Entretanto, no modelo de agitação psicomotora induzida por ouabaína, inibidora da

bomba Na^+/K^+ -ATPase, se observou a diminuição dos níveis de IL-6 no estriado, 7 dias após a administração intracerebroventricular da droga (TONIN et al., 2014). Analisados em conjunto, esses dados parecem indicar que a modulação do sistema dopaminérgico fornece uma resposta inflamatória mais robusta e semelhante ao observado em pacientes TB. Embora já se saiba que mediadores inflamatórios afetam o funcionamento de neurotransmissores (MILLER et al., 2013), observamos que o aumento de dopamina foi também capaz de induzir alterações nos níveis de citocinas cerebrais. A investigação da relação entre os sistemas imune e neurotransmissor, embora ainda pouco explorada no TB, é sem dúvida promissora, principalmente para a compreensão do papel da inflamação em transtornos psiquiátricos.

A administração aguda de carbonato de lítio não alterou a locomoção basal dos animais, em relação ao grupo controle em nenhuma das doses testadas (Fig. 6A e B). As mesmas doses foram utilizadas como pré-tratamento na tentativa de prevenir a hiperlocomoção induzida por GBR12909, sendo que as doses de 50 e 100 mg/Kg de carbonato de lítio atenuaram a hiperlocomoção (Fig. 7A e B). Diversos alvos moleculares do lítio já foram identificados, mas acredita-se que o principal mecanismo responsável por sua implicação terapêutica seja a inibição direta da quinase glicogênio sintase-3 (GSK-3), embora a atividade da proteína quinase B, também chamada Akt, pareça ser necessária para esse efeito (PAN et al., 2011). Akt é uma quinase serina/treonina que fosforila diversos alvos intracelulares, incluindo a GSK3 que, por sua vez, está envolvida em múltiplos mecanismos como desenvolvimento, crescimento e sobrevivência celulares (FRAME; COHEN, 2001; JOPE; JOHNSON, 2004). A transmissão dopaminérgica é capaz de inativar Akt e ativar GSK3 α e β , via receptor D2, independentemente da ativação da via de AMPc e esse efeito é revertido pela administração de lítio (BEAULIEU et al., 2004).

Apesar de não interferir na locomoção dos animais nas menores doses testadas, a dose de 300 mg/Kg de valproato de sódio aumentou a locomoção por si (Fig. 8A e B). Embora

Gardner & Piper tenham demonstrado que a administração oral de valproato de sódio nessa dose seja capaz de aumentar a locomoção em camundongos (GARDNER; PIPER, 1982), esse fato foi inesperado, pois a sedação é um dos efeitos colaterais conhecidos de drogas anticonvulsivantes.

O pré-tratamento com valproato de sódio agudamente também não foi eficaz em prevenir a hiperlocomoção induzida por GBR12909. Observamos que a dose de 75 mg/Kg atenuou a resposta, a coadministração da dose de 150 mg/Kg+ GBR12909 não alterou a distância percorrida em relação ao grupo controle e a dose de 300 mg/Kg aumentou a locomoção em níveis ainda maiores que os apresentados pelos animais em que somente o GBR12909 foi administrado (Fig. 9A e B). Esses resultados corroboram o trabalho de Van Enkhuizen e colaboradores que mostrou que o tratamento crônico com valproato não reverte o efeito do GBR12909 (ENKHUIZEN et al., 2012). Acredita-se que os efeitos terapêuticos do valproato sejam principalmente em função da inibição da enzima *histona deacetilase*, que favorece a conformação inativa da cromatina, e pelo aumento da neurotransmissão GABAérgica (CHIU et al., 2013). Sabe-se ainda que o valproato é capaz de inibir GSK-3 (ROWE; WIEST; CHUANG, 2007), e esse mecanismo de ação pode explicar sua eficácia como estabilizador do humor.

Embora o tratamento agudo com os estabilizadores do humor lítio e valproato não tenham sido capazes de reverter a hiperlocomoção induzida pelo GBR12909 neste trabalho, Queiroz e colaboradores mostraram que o tratamento subcrônico com lítio foi capaz de reverter o número de cruzamentos e *rearings* no campo aberto, enquanto o valproato reverteu apenas o número de *rearings* (QUEIROZ et al., 2015), confirmando a validade preditiva do modelo. Cabe ressaltar que no presente estudo tentamos mimetizar um episódio de mania e por isso optamos pelos pré-tratamentos agudos.

O antipsicótico aripiprazol tem sido indicado para tratar episódios de mania aguda, seja como monoterapia ou como adjuvante (YATHAM et al., 2013b) e sua eficácia tem sido amplamente comprovada (MANNING; MCELROY, 2009; SUPPES et al., 2008; TSAI et al., 2011; YATHAM, 2011). A administração aguda do aripiprazol foi eficaz em prevenir a hiperlocomoção induzida pelo GBR12909 em três das quatro doses testadas neste trabalho (Fig 10A e B). Nosso grupo demonstrou em estudos anteriores que essas doses do aripiprazol por si não interferem na locomoção dos animais (ALMEIDA-SANTOS et al., 2014; VIANA et al., 2013). O aripiprazol é um agonista parcial de receptores dopaminérgicos do tipo D2 e serotoninérgicos do tipo 5-HT1A, com atividade antagonista em receptores 5-HT2A (CITROME, 2015). A capacidade de interferir diretamente no sistema dopaminérgico pode explicar o sucesso dessa droga em prevenir o efeito agudo do GBR12909, da mesma forma em que é eficaz em reverter a hiperlocomoção induzida por anfetamina (LEITE; GUIMARÃES; MOREIRA, 2008; MAVRIKAKI; NOMIKOS; PANAGIS, 2010).

6. CONCLUSÃO

Os presentes resultados sugerem que a administração aguda do inibidor da recaptação de dopamina, GBR12909, é um promissor modelo de mania. Demonstramos que ele é capaz de mimetizar a hiperatividade observada em pacientes durante a fase maníaca e causar alterações neuroinflamatórias relevantes para a fisiopatologia da doença, corroborando as validades de face e de constructo. Ainda demonstramos que o lítio e o aripiprazol inibem o seu efeito, confirmando também a validade preditiva do modelo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-SANTOS, A. F. et al. The antipsychotic aripiprazole selectively prevents the stimulant and rewarding effects of morphine in mice. **European journal of pharmacology**, v. 742, p. 1–6, 2014.
- BARBOSA, I. G. et al. Cytokines in Bipolar Disorder: Paving the Way for Neuroprogression. **Neural Plasticity**, v. 2014, p. 1–9, 2014.
- BEAULIEU, J.-M. et al. Lithium antagonizes dopamine-dependent behaviors mediated by an AKT/glycogen synthase kinase 3 signaling cascade. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 14, p. 5099–5104, 2004.
- BRENNER, C. J.; SHYN, S. I. Diagnosis and management of bipolar disorder in primary care: a DSM-5 update. **The Medical clinics of North America**, v. 98, n. 5, p. 1025–48, 2014.
- CAPURON, L.; MILLER, A. H. Immune system to brain signaling: Neuropsychopharmacological implications. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 130, n. 2, p. 226–238, 2011.
- CECHINEL-RECCO, K. et al. Lithium and tamoxifen modulate cellular plasticity cascades in animal model of mania. **Journal of Psychopharmacology**, 2012.
- CHIU, C.-T. et al. Therapeutic potential of mood stabilizers lithium and valproic acid: beyond bipolar disorder. **Pharmacological reviews**, v. 65, n. 1, p. 105–42, 2013.
- CITROME, L. The ABC 's of dopamine receptor partial agonists – aripiprazole , brexpiprazole and cariprazine : the 15-min challenge to sort these agents out. **International Journal of Clinical Practice**, p. 1–10, 2015.
- COUSINS, D. A.; BUTTS, K.; YOUNG, A. H. The role of dopamine in bipolar disorder. **Bipolar Disorders**, v. 11, n. 8, p. 787–806, 2009.
- DANTZER, R. Cytokine-Induced Sickness Behavior: Where Do We Stand? **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 15, n. 1, p. 7–24, 2001.
- DOUMA, T. N. et al. The amphetamine-chlordiazepoxide mixture, a pharmacological screen for mood stabilizers, does not enhance amphetamine-induced disruption of prepulse inhibition. **Behavioural Brain Research**, v. 225, n. 1, p. 377–381, 2011.
- ENKHUIZEN, J. VAN et al. Chronic valproate attenuates some, but not all, facets of mania-like behavior in mice. **Changes**, v. 29, n. 6, p. 997–1003, 2012.
- FRAME, S.; COHEN, P. GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery. **The Biochemical journal**, v. 359, n. Pt 1, p. 1–16, 2001.
- FREY, B. N. et al. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, v. 31, n. 5, p. 326–332, 2006.
- GARDNER, C. R.; PIPER, D. C. Effects of agents which enhance GABA-mediated neurotransmission on licking conflict in rats and exploration in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 83, p. 25–33, 1982.
- GOULD, T. J.; KEITH, R. A.; BHAT, R. V. Differential sensitivity to lithium's reversal of amphetamine-induced open-field activity in two inbred strains of mice. **Behavioural Brain**

Research, v. 118, n. 1, p. 95–105, 2001.

HAROON, E.; RAISON, C. L.; MILLER, A. H. Psychoneuroimmunology Meets Neuropsychopharmacology: Translational Implications of the Impact of Inflammation on Behavior. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 1, p. 137–162, 2012.

JOPE, R. S.; JOHNSON, G. V. . The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 29, n. 2, p. 95–102, 2004.

KALINICHEV, M.; DAWSON, L. A. Evidence for antimanic efficacy of glycogen synthase kinase-3 (GSK3) inhibitors in a strain-specific model of acute mania. **The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)**, v. 14, n. 8, p. 1051–1067, 2011.

KATO, T.; KUBOTA, M.; KASAHARA, T. Animal models of bipolar disorder. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 31, n. 6, p. 832–842, 2007.

LACERDA, A. L.; SOARES, J. C.; TOHEN, M. O papel dos antipsicóticos atípicos no tratamento do transtorno bipolar : revisão da literatura. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 24, n. 1, p. 34–43, 2002.

LADENHEIM, B. et al. Methamphetamine-induced neurotoxicity is attenuated in transgenic mice with a null mutation for interleukin-6. **Molecular pharmacology**, v. 58, n. 6, p. 1247–1256, 2000.

LEITE, J. V.; GUIMARÃES, F. S.; MOREIRA, F. A. Aripiprazole, an atypical antipsychotic, prevents the motor hyperactivity induced by psychotomimetics and psychostimulants in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 578, n. 2-3, p. 222–227, 2008.

MACHADO-VIEIRA, R.; KAPCZINSKI, F.; SOARES, J. C. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 28, n. 2, p. 209–224, 2004.

MALETIC, V.; RAISON, C. Integrated Neurobiology of Bipolar Disorder. **Frontiers in Psychiatry**, v. 5, n. August, p. 1–24, 2014.

MANNING, J. S.; MCELROY, S. L. Treating bipolar disorder in the primary care setting: the role of aripiprazole. **Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry**, v. 11, n. 5, p. 245–257, 2009.

MAVRIKAKI, M. et al. Effects of lithium and aripiprazole on brain stimulation reward and neuroplasticity markers in the limbic forebrain. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 4, p. 630–638, 2014.

MAVRIKAKI, M.; NOMIKOS, G. G.; PANAGIS, G. Efficacy of the atypical antipsychotic aripiprazole in d-amphetamine-based preclinical models of mania. **The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)**, v. 13, n. 4, p. 541–548, 2010.

MILLER, A. H. et al. Cytokine Targets in the Brain: Impact on Neurotransmitters and Neurocircuits. **Depression and Anxiety**, v. 30, n. 4, p. 297–306, 2013.

OHGI, Y. et al. Effects of antidepressants on alternations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 116, n. 4, p. 1–8, 2013.

PAN, J. Q. et al. AKT kinase activity is required for lithium to modulate mood-related behaviors in mice. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American**

College of Neuropsychopharmacology, v. 36, n. 7, p. 1397–1411, 2011.

PERRY, W. et al. A reverse-translational study of dysfunctional exploration in psychiatric disorders: from mice to men. **Archives of general psychiatry**, v. 66, n. 10, p. 1072–1080, 2009.

PERRY, W. et al. Quantifying over-activity in bipolar and schizophrenia patients in a human open field paradigm. **Psychiatry Research**, v. 178, n. 1, p. 84–91, 2010.

QUEIROZ, A. I. G. et al. GBR 12909 administration as an animal model of bipolar mania: time course of behavioral, brain oxidative alterations and effect of mood stabilizing drugs. **Metabolic Brain Disease**, 2015.

ROWE, M. K.; WIEST, C.; CHUANG, D. M. GSK-3 is a viable potential target for therapeutic intervention in bipolar disorder. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 31, n. 6, p. 920–931, 2007.

STRAKOWSKI, S. et al. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a consensus model. **Bipolar disorders**, v. 14, n. 4, p. 313–325, 2012.

SUPPES, T. et al. Efficacy and safety of aripiprazole in subpopulations with acute manic or mixed episodes of bipolar I disorder. **Journal of Affective Disorders**, v. 107, n. 1-3, p. 145–154, 2008.

THASE, M. E.; DENKO, T. Pharmacotherapy of mood disorders. **Annual review of clinical psychology**, v. 4, p. 53–91, 2008.

TONIN, P. T. et al. Effects of ouabain on cytokine/chemokine levels in an animal model of mania. **Journal of Neuroimmunology**, v. 276, n. 1-2, p. 236–239, 2014.

TSAI, A. C. et al. Aripiprazole in the maintenance treatment of bipolar disorder: A critical review of the evidence and its dissemination into the scientific literature. **PLoS Medicine**, v. 8, n. 5, p. 1–13, 2011.

VALVASSORI, S. S. et al. Contributions of animal models to the study of mood disorders. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35, p. S121–S131, 2013.

VALVASSORI, S. S. et al. Lithium modulates the production of peripheral and cerebral cytokines in an animal model of mania induced by dextroamphetamine. **Bipolar Disorders**, v. 17, n. 5, p. 507–517, 2015.

VAN ENKHUIZEN, J. et al. The catecholaminergic–cholinergic balance hypothesis of bipolar disorder revisited. **European Journal of Pharmacology**, v. 753, p. 114–126, 2015.

VIANA, T. G. et al. Effects of aripiprazole, an atypical antipsychotic, on the motor alterations induced by acute ethanol administration in mice. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 112, n. 5, p. 319–24, 2013.

YATHAM, L. N. A clinical review of aripiprazole in bipolar depression and maintenance therapy of bipolar disorder. **Journal of Affective Disorders**, v. 128, n. SUPPL. 1, p. S21–S28, 2011.

YATHAM, L. N. et al. **Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) collaborative update of CANMAT guidelines for the management of patients with bipolar disorder: Update 2013**. [s.l: s.n.]. v. 15

YATHAM, L. N. et al. The evolution of CANMAT Bipolar Disorder Guidelines: Past,

present, and future. **Bipolar Disorders**, v. 15, n. 1, p. 58–60, 2013b.

YOUNG, J. W. et al. A reverse-translational approach to bipolar disorder: Rodent and human studies in the Behavioral Pattern Monitor. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 31, n. 6, p. 882–896, 2007.

YOUNG, J. W. et al. GBR 12909 administration as a mouse model of bipolar disorder mania: Mimicking quantitative assessment of manic behavior. **Psychopharmacology**, v. 208, n. 3, p. 443–454, 2010a.

YOUNG, J. W. et al. The mania-like exploratory profile in genetic dopamine transporter mouse models is diminished in a familiar environment and reinstated by subthreshold psychostimulant administration. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 96, n. 1, p. 7–15, 2010b.

YOUNG, J. W.; HENRY, B. L.; GEYER, M. A. Predictive animal models of mania: Hits, misses and future directions. **British Journal of Pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1263–1284, 2011.

ZALCMAN, S. et al. Cytokine-specific central monoamine alterations induced by interleukin-1, -2 and -6. **Brain Research**, v. 643, n. 1-2, p. 40–49, 1994.

ZALCMAN, S.; SAVINA, I.; WISE, R. A. Interleukin-6 increases sensitivity to the locomotor-stimulating effects of amphetamine in rats. **Brain Research**, v. 847, n. 2, p. 276–283, 1999.