



**UNISUL**

**UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA  
FERNANDA SANTANA ROSA**

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS DA OLANZAPINA EM ANIMAIS TRATADOS  
COM METILFENIDATO**

Tubarão  
2012

**FERNANDA SANTANA ROSA**

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS DA OLANZAPINA EM ANIMAIS TRATADOS  
COM METILFENIDATO**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciências da Saúde, da Universidade do Sul de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Jucélia Jeremias Fortunato, Dra.

Tubarão  
2012

**FERNANDA SANTANA ROSA**

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS DA OLANZAPINA EM ANIMAIS TRATADOS  
COM METILFENIDATO**

Esta dissertação foi julgada adequada à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde e aprovada em sua forma final pelo Programa de Mestrado em Ciências da Saúde, da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Tubarão, 19 de novembro de 2012.

---

Professora e orientadora: Jucélia Jeremias Fortunato, Dra.  
Universidade do Sul de Santa Catarina.

---

Professora: Fabricia Cardoso Petronilho, Dra.  
Universidade do Sul de Santa Catarina.

---

Professora: Ana Claudina Prudêncio Serratine, Dra.  
Universidade do Sul de Santa Catarina.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelas possibilidades infinitas.

Aos meus pais, por sempre me mostrarem o caminho certo, e jamais desistirem, pela dedicação e carinho que tem por mim. Passamos por algumas dificuldades, mas enfim chegamos ao fim. A presença de vocês em minha vida é indispensável.

A minha irmã, independente de qualquer coisa, suas portas estão sempre abertas para mim. Sua alegria em me ver vencendo é contagiante. Seu carinho por mim é imenso e, meu amor por você é inexplicável!

Aos meus queridos amigos Daniela e André, um casal que Deus me enviou de presente. É lindo o amor e carinho que sinto por eles, muito obrigada pelas muitas noites mal dormidas e por me ajudarem.

Ao meu noivo, Eduardo Rodrigues, pela sua paciência e dedicação. Você me ajudou muito em momentos de ansiedade e insegurança. Obrigada por estar ao meu lado todos os dias. Amo-te eternamente!

Aos meus sogros, Francisco e Bernadete, que em momento de dificuldade financeira me ajudaram com muito carinho, obrigada!

As professoras, Dra. Rosemeri Maurici da Silva e Dayani Galato, que com suas experiências me ajudaram e incentivaram a chegar até o fim.

A minha mestra, profa. Dra. Jucélia Jeremias Fortunato, pela dedicação, empenho, críticas, orientação, bom humor, seriedade. Enfim, por tudo que é, e como é. Sua dedicação foi perfeita, você é uma pessoa maravilhosa. Foi muito bom ter você como minha orientadora e amiga por todo esse tempo.

## RESUMO

O transtorno do humor bipolar é um transtorno psiquiátrico grave, multifatorial e altamente incapacitante, sendo sua progressão associada a grandes prejuízos cognitivos aparentemente irreversíveis. É caracterizado por episódios alternados de humor (mania/hipomania e depressão) que variam em intensidade, duração e frequência. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos comportamentais do tratamento agudo de olanzapina em animais tratados cronicamente com metilfenidato. Para isso, ratos *Wistar* machos adultos foram divididos em dois grupos, animais que receberam administração aguda de olanzapina nas doses de 2mg/kg ( $n=40$ ) e de 5mg/kg ( $n=40$ ). Para a caracterização do modelo de mania, os animais receberam metilfenidato (2,5mg/kg), administrado por via intraperitoneal, durante sete dias consecutivos. Os resultados mostraram que a olanzapina exerce efeito antimaniaco observado no número de cruzamentos, movimentos de exploração e de auto-limpeza avaliados no teste de habituação ao campo aberto, de forma semelhante entre as doses de 2mg/kg e 5mg/kg. No entanto, a administração aguda de olanzapina, de forma mais expressiva na dose de 2mg/kg, apresentou efeito amnésico, representado pelo menor índice de reconhecimento observado no teste de reconhecimento de objetos. O conjunto destes resultados sugere que não existe associação entre efeitos indicadores de mania a partir da administração de metilfenidato e o melhor desempenho no teste de memória em animais experimentais que receberam tratamento agudo de olanzapina.

Palavras-chave: Transtorno do humor bipolar; Olanzapina; Metilfenidato.

## ABSTRACT

Bipolar disorder is a severe psychiatric disorder, multifactorial and highly disabling whose progression has been associated with apparently irreversible cognitive impairments. Is characterized by alternating episodes of mood (mania / hypomania and depression) that vary in intensity, duration and frequency. The objective of the present study was to evaluate the behavioral effects of acute treatment with olanzapine in animals chronically treated with methylphenidate. In order to do that, adult male Wistar rats were divided into two groups, animals that received acute administration of olanzapine in doses of 2mg/kg ( $n = 40$ ) and 5mg/kg ( $n = 40$ ). For the characterization of the model of mania, animals received methylphenidate (2,5mg/kg) administered intraperitoneally for seven consecutive days. The results show that olanzapine has antimanic effect observed in the number of crossing, rearings and groomings in the open-field habituation test, similar between the 2mg/kg and 5mg/kg. However, the acute administration of olanzapine, more significantly at a dose of 2mg/kg, showed amnesic effect, represented by lower recognition rate observed in the test object recognition. Together these results suggest that there is not an association between indicators of mania effects from administration of methylphenidate and performance in the memory test in experimental animals that received acute treatment of olanzapine.

Keywords: Bipolar disorder; Olanzapine; Methylphenidate.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Critérios do DSM-IV-TR para episódio maníaco. ....	11
Quadro 2 - Critérios do DSM-IV-TR para episódio hipomaníaco.....	12
Quadro 3 - Critérios do DSM-IV-TR para episódio depressivo.....	13
Figura 1 - Estrutura química do Metilfenidato. ....	21
Figura 2 - Estrutura química da Olanzapina.....	22
Figura 3 - Movimentos locomotores avaliados no teste de habituação ao campo aberto entre grupos que receberam olanzapina na dose de 2mg/kg. ....	30
Figura 4 - Movimentos locomotores avaliados no teste de habituação ao campo aberto entre grupos que receberam olanzapina na dose de 5 mg/kg. ....	31
Figura 5 - Índice de Reconhecimento do Objeto Novo entre grupos que receberam olanzapina na dose de 2 mg/kg.....	33
Figura 6 - Índice de Reconhecimento do Objeto Novo entre grupos que receberam olanzapina na dose de 5 mg/kg.....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tempo total de exploração de ambos os objetos na sessão treino no teste de reconhecimento de objetos em ratos adultos que receberam olanzapina (2 mg/kg), acompanhados ou não do tratamento prévio com metilfenidato. ....	32
Tabela 2 - Tempo total de exploração de ambos os objetos na sessão treino no teste de reconhecimento de objetos em ratos adultos que receberam metilfenidato, acompanhados ou não da administração aguda de olanzapina (5 mg/kg). ....	33



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

MPD - metilfenidato

LTM – long term memory

OLZ - olanzapina

STM – short term memory

TCA – teste de habituação ao campo aberto

TDAH – transtorno de déficit de atenção e hiperatividade

THB - transtorno do humor bipolar

TRO – teste de reconhecimento de objetos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
1.1 TRANSTORNO DO HUMOR BIPOLAR .....	10
<b>1.1.2 Tratamento</b> .....	<b>14</b>
1.2 FISIOPATOLOGIA .....	16
1.3 DÉFICT COGNITIVO NO THB .....	17
1.4. MEMÓRIA .....	19
1.5 USO DE PSICOESTIMULANTES PARA INDUZIR MODELO ANIMAL DE MANIA .....	20
1.6 OLANZAPINA .....	22
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>23</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>24</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
<b>4 MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
4.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA .....	25
4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS .....	25
4.3 DESENHO EXPERIMENTAL .....	25
4.4 TESTES COMPORTAMENTAIS .....	26
<b>4.4.1 Teste de habituação ao campo aberto (TCA)</b> .....	<b>26</b>
<b>4.4.2 Teste de reconhecimento de objetos (TRO)</b> .....	<b>27</b>
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	28
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>29</b>
5.1 TESTE DE HABITUAÇÃO AO CAMPO ABERTO .....	29
<b>5.1.1 Grupo OLZ 2 mg/kg</b> .....	<b>29</b>
<b>5.1.2 Grupo OLZ 5 mg/kg</b> .....	<b>30</b>
5.2 TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS .....	32
5.2.1 OLZ 2 mg/kg .....	32
5.2.2 OLZ 5 mg/kg .....	33
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS</b> .....	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>41</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 TRANSTORNO DO HUMOR BIPOLAR

O Transtorno do Humor Bipolar (THB) é uma síndrome afetiva complexa, multifatorial, potencialmente grave e relacionada a alterações na plasticidade estrutural cerebral em neurônio e glia (ONGUR et al., 1998; JOHNSTON-WILSON et al., 2000; RAJKOWSKA et al., 2001; KILBOURNE et al., 2004). Acomete cerca de 1,6% da população mundial e está associado a um alto índice de suicídio e desemprego, representando um impacto significativo na qualidade de vida dos pacientes, além de grande carga para família e sociedade em geral (ROCCA e LAFER, 2006; DEL PORTO; DEL PORTO, 2005; FREY; FONSECA; MACHADO-VIEIRA 2004; KAPCZINSKI ; FREY; ZANNATTO, 2004). Além disso, o THB está associado com o aumento da morbidade e da mortalidade por condições médicas gerais, como doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes mellitus (KUPFER, 2005).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, o THB é considerado a sexta causa de incapacidade entre as condições médicas e psiquiátricas em pessoas de 15 a 44 anos (LOPEZ; MURRAY, 1998). A prevalência do THB na população geral varia entre 0,4 e 1,6% (APA, 2002) e é maior em mulheres, com aproximadamente 1,3%, quando comparado aos homens, com 0,8% (MERIKANGAS et al., 2007), sendo que o início dos sintomas ocorre geralmente entre o fim da adolescência e o início da vida adulta (JUDD; AKISKAL; SCHETTLER, 2002).

#### 1.1.1 Características Clínicas

O THB<sup>1</sup> é caracterizado por episódios alternados de humor (mania/hipomania e depressão) que variam em intensidade, duração e frequência. Além destes, há ainda aqueles mistos, ou seja, episódios nos quais ocorrem sintomas tanto característicos das fases de mania/hipomania como da fase de depressão (ROCCA;LAFER, 2006). O curso clínico do THB é crônico, usualmente caracterizado por períodos de exacerbação dos sintomas (episódios agudos)

---

<sup>1</sup> O termo “bipolar” expressa dois polos de humor ou de estados afetivos que se alternam (CALABRESE et al., 2003).

intercalados por períodos subsindrômicos e períodos de eutimia<sup>2</sup> (JUDD; AKISKAL, 2003). O episódio maníaco é definido, segundo a Associação Psiquiátrica Americana (APA, 2000), por um período em que o humor encontra-se alteradamente exacerbado ou irritável, com duração de uma semana ou menos, acompanhado por pelo menos três dos seguintes sintomas: hiperatividade com falta de necessidade de sono, fuga de ideias, aceleração do pensamento, agressividade, paranoia, impulsividade e um otimismo aumentado que geralmente se torna tão extremo a ponto de prejudicar o julgamento dos pacientes (BELMAKER, 2004). É a intensidade, o tipo e a cronicidade desses sintomas que determinam a subdivisão do diagnóstico entre mania e hipomania. Na hipomania as alterações são mais moderadas e podem ou não resultar em sérios problemas para o indivíduo.

Os critérios diagnósticos para definição dos episódios de mania e hipomania pelo Manual de Diagnóstico e Estatística da Associação Psiquiátrica Americana, quarta revisão (DSM-IV-TR), são descritos abaixo, nos quadros 1 e 2 respectivamente:

Quadro 1 - Critérios do DSM-IV-TR para episódio maníaco.

**(continua)**

- A) Um período distinto de humor anormal e persistentemente elevado, expansivo ou irritável, com duração mínima de uma semana (ou qualquer duração, caso a hospitalização seja necessária).
- B) Durante o período de perturbação do humor, três (ou mais) dos seguintes sintomas estiverem presentes em grau significativo:
- autoestima inflada ou grandiosidade;
  - redução da necessidade do sono;
  - mais loquaz que o habitual ou pressão por falar;
  - fuga de ideias ou experiência subjetiva de que os pensamentos estão correndo;
  - distratibilidade
  - agitação psicomotora
  - envolvimento excessivo em atividades prazerosas com alto potencial para consequências dolorosas

<sup>2</sup> A eutimia, usualmente, é definida como a remissão dos sintomas, entretanto, idealmente, seria o período no qual o paciente não apenas estaria sem sintomas, mas (re)integrado funcionalmente em suas atividades de rotina (SOUZA, 2005).

Quadro 1 - Critérios do DSM-IV-TR para episódio maníaco.

**(conclusão)**

- C) Os sintomas não satisfazem os critérios para episódio misto.
- D) A perturbação do humor é suficientemente grave a ponto de causar prejuízo acentuado nas atividades sociais ou em relacionamentos costumeiros, ou de exigir hospitalização como meios de evitar danos a si mesmo e a terceiros.
- E) Os sintomas não se devem a efeitos fisiológicos diretos de uma substância ou de uma condição médica geral.

Fonte: Adaptado de American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4<sup>th</sup> ed. rev. (2000).

Quadro 2 - Critérios do DSM-IV-TR para episódio hipomaníaco.

- A) Um período distinto de humor permanentemente elevado, expansível ou irritável, com duração mínima de quatro dias, nitidamente diferente do humor habitual não deprimido.
- B) Durante o período de perturbação do humor, três (ou mais) dos seguintes sintomas estiverem presentes em grau significativo:
- autoestima inflada ou grandiosidade;
  - redução da necessidade do sono;
  - mais loquaz que o habitual ou pressão por falar;
  - fuga de ideias ou experiência subjetiva de que os pensamentos estão correndo;
  - distratibilidade
  - agitação psicomotora
  - envolvimento excessivo em atividades prazerosas com alto potencial para consequências dolorosas
- C) O episódio está associado com uma inequívoca alteração do funcionamento, que não é característica do indivíduo quando assintomático.
- D) A perturbação do humor é observável por terceiros.
- E) O episódio não é suficiente grave a ponto de causar prejuízo acentuado no comportamento social ou ocupacional ou de exigir hospitalização.
- F) Os sintomas não se devem a efeitos fisiológicos diretos de uma substância ou de uma condição médica geral.

Fonte: Adaptado de American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4<sup>th</sup> ed. rev. (2000).

Segundo o DSM-IV-TR, o episódio maníaco define o diagnóstico do THB tipo I e, portanto, a diferença para o THB tipo II, onde apenas episódios hipomaníacos estão presentes (FERNANDES et al., 2011). É importante ressaltar que os episódios hipomaníacos não devem ser confundidos com os vários dias de eutimia que podem seguir-se à remissão de um episódio depressivo maior. Outro aspecto importante é que episódios de humor induzidos por substância ou condição médica geral não se enquadram nos critérios para um THB tipo I ou II.

Os episódios de depressão caracterizam-se por humor deprimido, perda de interesse, perda de apetite, perturbações no sono, retardo psicomotor, diminuição da velocidade de pensamento e fala, baixa estima e ideação suicida (BELMAKER, 2004). Assim como nos episódios maníacos, a gravidade pode variar consideravelmente de uma discreta lentificação física e mental até quadros de estupor depressivo, com delírios e alucinações (GOODWIN; JAMILSON, 2007).

O quadro 3 demonstra os critérios diagnósticos para definição de episódio depressivo, segundo o DSM-IV-TR:

Quadro 3 - Critérios do DSM-IV-TR para episódio depressivo.

**(continua)**

A) No mínimo cinco dos seguintes sintomas estiverem presentes durante o período mínimo de duas semanas consecutivas, quase todos os dias:

- humor deprimido na maior parte do dia;
- acentuada diminuição do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades, na maior parte do dia;
- perda ou ganho de peso significativo sem estar em dieta;
- insônia ou hipersonia;
- agitação ou retardo psicomotor;
- fadiga ou perda de energia;
- sentimento de inutilidade, culpa excessiva ou inadequada;
- capacidade diminuída de pensar ou concentrar-se, ou indecisão;
- pensamentos de morte recorrentes (não apenas medo de morrer), ideação suicida recorrente sem um plano específico, tentativa de suicídio ou plano específico para cometer suicídio.

**Nota:** Pelo menos um dos sintomas descritos acima deve ser: (i) humor deprimido ou (ii) perda de interesse ou prazer.

Quadro 3 - Critérios do DSM-IV-TR para episódio depressivo.

(conclusão)

B) Os sintomas não satisfazem os critérios para um episódio misto.

C) Os sintomas causam sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo no comportamento social ou ocupacional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo.

D) Os sintomas não se devem a efeitos fisiológicos diretos de uma substância ou de uma condição médica geral.

Fonte: Adaptado de American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4<sup>th</sup> ed. rev. (2000).

Há, ainda, a possibilidade de ocorrerem episódios mistos e ciclagens. Os episódios mistos caracterizam-se por uma complexa apresentação clínica de sintomas em intensidade e proporções variadas. Representam tanto um estado de depressão entre as fases depressiva e maníaca, bem como uma condição clínica independente com características comuns a ambas (GOODWIN; JAMINSON, 2007).

Durante a vida, o THB I atinge aproximadamente 0,8% da população adulta, sendo homens e mulheres igualmente afetados, já o THB tipo II afeta cerca de 0,5% da população, sendo mais comum em mulheres (SANTIN; CERESER; ROSA, 2005). A história familiar tem uma importante relação com o THB, pois o risco é aumentado para parentes de primeiro grau, sendo 4 a 24% para o tipo I e de 1 a 5% para o tipo II (LIMA et al., 2005).

Há uma grande heterogeneidade na apresentação clínica dos episódios ao longo da vida (NEVES et al., 2009). Além disso, o THB apresenta altos índices de recaída (JUSTO; CALIL, 2004; LOTUFO NETO, 2004), quando não tratado corretamente os episódios tendem a tornarem-se cada vez mais frequentes. As pesquisas demonstram que mesmo após a remissão dos episódios, os pacientes bipolares podem manter sintomas residuais, o que dificulta ainda mais o tratamento (JUDD; AKISKAL; SCHETTLER, 2002).

### 1.1.2 Tratamento

Devido ao curso crônico e a frequente reincidência e gravidade dos sintomas de humor, o tratamento do THB baseia-se principalmente no manejo dos episódios agudos e no tratamento de manutenção como prevenção para ocorrência de novos episódios (YATHAM; GOLDSTEIN; VIETA, 2005). Dado o significativo

grau de morbidade e mortalidade associado com esta doença, atividades clínicas e de pesquisa tem focado na identificação de intervenções farmacológicas e psicossociais que resultem em índices de eficácia terapêutica satisfatórios (PERLICK et al., 2007; ZARETSKY; RIZVI; PARIKH, 2007; FIGUEIREDO et al., 2009), no entanto, ainda não há um tratamento único ou uma combinação de tratamentos que funcione em todos os pacientes bipolares (CHENIAUX, 2011).

Os objetivos do tratamento da fase aguda estão focados no tratamento da mania sem causar depressão e/ou consistentemente melhorar depressão sem causar mania. A fase de continuação tem como meta estabilizar os benefícios, reduzir os efeitos colaterais, tratar até a remissão, reduzir a possibilidade de recaída<sup>3</sup> e aumentar o funcionamento global (CHENIAUX, 2011). Os objetivos do tratamento de prevenção estão relacionados à prevenção da mania e/ou depressão e a maximização da recuperação funcional, ou seja, que o paciente continue em remissão (SOUZA, 2005).

Medicamentos efetivos usados, em combinação com psicoterapia, permitem que 75 – 80% dos pacientes portadores de THB levem vida essencialmente normal. A presença de comorbidades em pacientes bipolares e seu diagnóstico correto podem influenciar na escolha do tratamento, bem como na resposta do paciente (SANTIN; CERESER; ROSA, 2005). Os principais fármacos estabilizadores do humor são o lítio, a carbamazepina e o ácido valpróico, além disso, antipsicóticos atípicos também são utilizados com este propósito (FREEMAN; STOLL, 1998; SANTIN; CERESER; ROSA, 2005).

O tratamento da mania aguda envolve a suspensão de medicações antidepressivas que estejam em uso pelo paciente e início de tratamento com agentes antimaníacos (lítio, ácido valpróico, carbamazepina e antipsicóticos) (KAPCZINSKI et al., 2005), caso o paciente ainda não os esteja usando.

Para o tratamento da depressão, por outro lado, apenas a combinação de olanzapina e fluoxetina e a quetiapina demonstraram eficácia. A lamotrigina, por sua vez, foi aprovada para o tratamento de manutenção para a prevenção de episódios depressivos (CONNOLLY; THASE, 2011).

Estudos destinados a avaliar a eficácia do tratamento na prevenção de recaídas são escassos. O lítio (GEDDES; GOODWIN, 2001), o ácido valpróico

---

<sup>3</sup> A recaída de um episódio de humor pode ser definida como o surgimento de sintomas na fase de continuação, enquanto o surgimento dos sintomas na fase de manutenção constitui-se em uma recorrência (SOUZA, 2005).



(MARCRITCHIE et al., 2001), a carbamazepina (OKUMA; KISHIMOTO, 1998) e a olanzapina (TOHEN et al., 2003; BALDESSARINI et al., 2003) tem se mostrado eficazes no tratamento de manutenção reduzindo recaídas maníacas e depressivas. No entanto, mesmo recebendo os tratamentos preconizados pela literatura e em uso regular da medicação, a maioria dos pacientes apresenta alterações de humor durante a maior parte de suas vidas (JUDD et al., 2002; JUDD; AKISKAL, 2003), não alcançando remissão sustentada dos sintomas.

Alguns fatores associados a esse insucesso terapêutico abrangem o diagnóstico tardio, o tempo de doença, a comorbidade com dependência e abuso de substâncias e as interações medicamentosas. Os maiores desafios no tratamento do THB são, portanto, alcançar a remissão dos episódios de humor e recuperar a função cognitiva.

## 1.2 FISIOPATOLOGIA

Nos últimos anos, avanços nas técnicas de neuroimagem, genéticas e de biologia molecular têm gerado novos conhecimentos acerca das bases biológicas da bipolaridade (ALVES et al., 2012).

As teorias iniciais a respeito da fisiopatologia do THB focaram-se particularmente no sistema de neurotransmissão das aminas biogênicas, em especial a dopamina (BERK; DODD; KAUER'SANTANA, 2007), visto que é extensivamente distribuído nos circuitos límbico-estriado-córtex pré-frontal, regiões que controlam as manifestações comportamentais dos transtornos de humor. Mais recentemente, estudos também apontaram disfunções nas atividades neuronais dos sistemas serotoninérgico, gabaérgico e glutamatérgico (STAHL et al., 2010).

Embora tais estudos não permitam que se alcance um substrato celular mais específico nas regiões do sistema límbico, as alterações anatômicas e funcionais podem ser observadas nos estudos de neuroimagem de determinadas regiões do encéfalo de indivíduos bipolares. Confirmando isto, há estudos neuropatológicos (*pós-mortem*) que demonstram diminuição significativa de células gliais no córtex pré-frontal e sistema límbico e de células neuronais no córtex pré-frontal e hipocampo de indivíduos com THB (FREY; FONSECA; MACHADO-VIEIRA, 2004; KAPCZINSKI; FREY; ZANNATTO, 2004). O aumento no volume da amígdala

de pacientes crônicos com múltiplos episódios também foi constatado (HALDANE; FRANGOU, 2005).

Outras evidências apontam que os transtornos do humor estão associados a alterações no sistema de comunicação entre os circuitos encefálicos reguladores do humor, e que antidepressivos e estabilizadores do humor ativariam cascatas de sinalização que regulam a plasticidade e sobrevivência celular, com subsequente melhora gradativa da transmissão da informação nestes circuitos encefálicos (NESTLER et al., 2002; COYLE; DUMAN, 2003; CASTRÉN, 2005). Especificamente no THB, foram observadas mudanças na atividade dos segundos mensageiros, com um aumento da atividade das proteínas G e das vias da adenosina monofosfato cíclica (AMPC) e do fosfatidilinositol (PIP<sub>2</sub>) que, por meio da regulação da síntese de DNA, modificam as proteínas envolvidas com a plasticidade sináptica e a neurogênese (FREY ; FONSECA; MACHADO-VIEIRA, 2004).

Outro aspecto no THB é o envolvimento do estresse oxidativo na sua fisiopatologia. Estudos têm apontado alterações da atividade das enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) em hemácias (RAJENKAR et al., 2003; OZCAN et al., 2004) e no soro (ANDREAZZA et al., 2007; FREY et al., 2007) de pacientes com THB. Os níveis de peroxidação lipídica, de uma forma geral, aparecem aumentados nesses pacientes (RAJENKAR et al., 2003; OZCAN et al., 2004; ANDREAZZA et al., 2007). No THB, a hipótese prevalente é de que uma maior carga de estresse oxidativo seja gerada por um distúrbio na função mitocondrial. Algumas teorias relacionam possível envolvimento das enzimas do ciclo de Krebs (CORRÊA et al., 2007), da cadeia respiratória mitocondrial (CALABRESE et al., 2001; KONRADI et al., 2004) e da creatina quinase (DAGER et al., 2004; STRECK et al., 2008) com a fisiopatologia do transtorno bipolar, desta forma demonstrando alteração no metabolismo energético.

A vulnerabilidade genética e os estressores psicossociais globais, também podem representar fatores de risco associados ao THB e deflagrar, conjuntamente, a ocorrência de episódios completos (MACHADO-VIEIRA; SOARES, 2007).

### 1.3 DÉFICT COGNITIVO NO THB

Os pacientes com THB apresentam prejuízos cognitivos permanentes e que estão presentes em todos os estados da doença, inclusive na eutímia, porém são acentuados durante os episódios de humor (TORRES; BOUDREAU; YATHAM, 2007; BALANZÁ-MARTÍNEZ et al., 2010). Os déficits cognitivos comprometem o funcionamento ocupacional ou social e representam um declínio em relação ao nível prévio de funcionamento.

Ainda, os pacientes com maior duração da doença, maior número de hospitalizações, tentativas de suicídio e número de episódios prévios de mania tendem a apresentar piores desempenhos em tarefas avaliando memória, atenção (BALANZÁ-MARTÍNEZ et al., 2010) ou a capacidade para solucionar problemas (ROCCA; LAFER, 2006). Também podem apresentar déficits cognitivos, pacientes bipolares com ou sem história de sintomas psicóticos, portadores de transtorno esquizoafetivo, pacientes com comorbidades e população pediátrica de THB (MARTÍNEZ-ARÁN et al., 2011).

As disfunções cognitivas podem refletir padrões anormais de ativação cerebral (BENABARRE et al., 2005; STRAKOWSKI; DEL BELLO; ADLER, 2005), envolvendo o córtex pré-frontal e sugerindo disfunções corticais-subcorticais-límbicas (MALHI et al., 2004). Os prejuízos nessas áreas e as dificuldades para a remissão funcional, possivelmente, associam-se com a progressão da doença (MALLOY-DINIZ; NEVES; CORRÊA, 2009).

As principais mudanças neuropsicológicas observadas em pacientes bipolares estão relacionadas às funções executivas<sup>4</sup> (ROCCA; LAFER, 2006). Entre as habilidades prejudicadas destacam-se a organização e o planejamento, o comportamento orientado para metas, a memória operacional, o controle emocional, a verificação e a regulação da ação e a inibição seletiva do comportamento.

Em um estudo feito com uma amostra de pacientes bipolares eutímicos e bipolares I na fase maníaca, Fleck, Shear e Strakowski (2005), observaram deficiências na memória de reconhecimento verbal durante a mania que não foram evidentes durante a eutímia, além disso, os dois grupos apresentaram déficits de memória verbal.

Apesar de não estar comprovado que pacientes com THB apresentam disfunção cognitiva generalizada durante episódios agudos de mania e depressão, a

---

<sup>4</sup> As funções executivas são aquelas relacionadas às habilidades de planejamento, ao uso de estratégias para solução de problemas e execução de metas (RODRÍGUEZ et al., 2012).

descoberta de que esses déficits persistem durante a remissão dos sintomas aumenta a possibilidade de que o prejuízo cognitivo pode representar um traço para a doença (ELSHAHAWI et al., 2010; CARRIE; WOOGEN; GLAN, 2010).

#### 1.4. MEMÓRIA

A memória é base inicial de todo o comportamento que vem a ser executado, é a aquisição, a formação, a conservação e a evocação (aprendizado) de informações (IZQUIERDO, 2002; ZARDO, 2006). Principalmente do ponto de vista prático ou clínico, existem classificações de memória que têm contribuído para esclarecer aspectos importantes.

As memórias são classificadas de acordo com o seu conteúdo (declarativas ou explícitas, procedurais ou implícitas) (SQUIRE, 1992), de acordo com sua natureza (memória de trabalho), e, ainda, de acordo com o tempo durante o qual são armazenadas (memória de curta duração, STM – do inglês “*short-term memory*” e memória de longa duração, LTM – do inglês “*long-term memory*”).

As STM são memórias do tipo declarativa, ou seja, estão relacionadas a fatos, acontecimentos, lugares, objetos e pessoas e requerem atenção e esforço consciente (IZQUIERDO, 2002). Estas memórias persistem por minutos a poucas horas e são vulneráveis a perturbações (IZQUIERDO, 2002).

As LTM são aquelas cuja consolidação é mais demorada e persistem dias, anos ou mesmo uma vida inteira (IZQUIERDO, 2002). A formação de uma LTM envolve uma série de processos metabólicos no hipocampo e outras estruturas cerebrais que compreendem diversas fases e que requerem entre três e oito horas. Enquanto esses processos não estiverem concluídos, as LTM são lábeis. O conjunto desses processos e o seu resultado final denomina-se consolidação (McGAUGH, 2000).

Durante muito tempo a STM foi relatada como um processo diretamente relacionado à formação da LTM. No entanto, estudos têm demonstrado que a STM pode ser reprimida sem afetar a LTM, ou seja, ambas ativam fenômenos diferentes, recrutando eventos celulares e moleculares de forma distinta (IZQUIERDO et al., 1998).

Acredita-se que a formação de memórias e o aprendizado envolvam alterações na representação neural, através de eventos plásticos que modificam a

comunicação entre os neurônios (DUDAI, 1989). Estes eventos plásticos podem incluir alterações na estrutura, na distribuição e no número de sinapses e também alterações morfológicas (RUSAKOV et al., 1997; WOOLF, 1998; GEINISMAN, 2000).

Diferentes testes comportamentais possibilitam o estudo de diferentes tipos de memórias. A tarefa de reconhecimento de objetos, por exemplo, caracteriza-se por ser uma memória de conteúdo não aversivo, podendo ser facilmente correlacionada com tarefas de memória de reconhecimento em humanos, as quais são amplamente utilizadas em testes cognitivos para a avaliação de diferentes transtornos psiquiátricos (REED, SQUIRE, 1997; DIX; AGGLETON, 1999).

### 1.5 USO DE PSICOESTIMULANTES PARA INDUZIR MODELO ANIMAL DE MANIA

A utilização de modelos animais tem trazido novos conhecimentos sobre a neurobiologia do THB (MACHADO-VIEIRA et al., 2005), mas a escassez de modelos consistentes é uma das atuais limitações no entendimento da fisiopatologia dos transtornos de humor (MANJI et al., 2001).

Não existem modelos animais apropriados para o estudo do THB, uma vez que os modelos disponíveis não conseguem mimetizar a ciclicidade das fases mania-depressão (MACHADO-VIEIRA et al., 2004). A maioria dos modelos animais utilizados é, portanto, específica para o episódio de mania ou para o episódio de depressão e poucos se aventuram em mimetizar a ciclicidade e recorrência típica do THB em animais (POST, 2007).

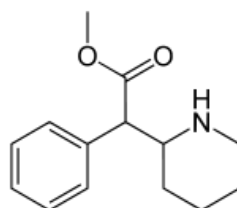
Um dos modelos animais de mania mais bem consolidados na literatura é o modelo induzido pela administração de psicoestimulantes, incluindo a anfetamina (NESTLER et al., 2002; MACHADO-VIEIRA et al., 2004; GOULD et al., 2004; FREY et al., 2006) e derivados anfetamínicos, entre eles o metilfenidato (BARBOSA et al., 2011), baseando-se no fato que há aumento nos níveis de dopamina em pacientes durante o episódio de mania (VOGEL et al., 2004).

O aumento da atividade motora e alterações no comportamento exploratório de animais experimentais têm sido utilizados como medidas objetivas e critério central para o diagnóstico de mania nestes modelos (MACHADO-VIEIRA et al., 2004; EINAT, 2006). Os critérios de quantificação da hiperatividade motora, além do critério de alterações no comportamento exploratório, têm sido utilizados como

medidas objetivas de modelos translacionais-reversos interespecies. Nestes estudos um modelo animal de mania aceito poderia ajudar no desenvolvimento de modelos humanos e animais mais precisos objetivando a fundamentação neurobiológica das doenças neuropsiquiátricas (PERRY et al., 2009).

O metilfenidato (MPD, metil 2-fenil-2-(2-piperidil) acetato – nomenclatura IUPAC) (Figura 1) é uma substância estimulante com conhecida ação dopaminérgica que tem sido usada com eficácia no tratamento do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH). Este fármaco reduz os sintomas de desatenção, hiperatividade e impulsividade (GREENHILL; FINDLING; SWANSON, 2002). É um fármaco que age como potente psicoestimulante no sistema nervoso central, interagindo com os transportadores de dopamina, levando a liberação de dopamina ou impedindo sua recaptção, o que causa o aumento da concentração de dopamina extracelular (PEREIRA; DEL BEL, 2010).

Figura 1 - Estrutura química do Metilfenidato.



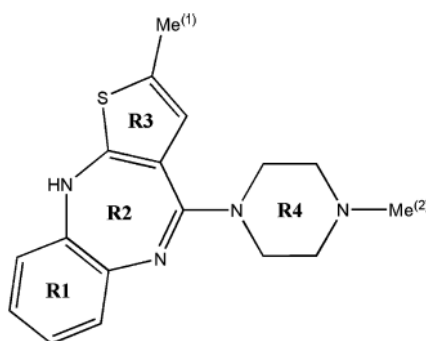
Fonte: Chemical Register. Disponível em: <[http:// www.chemicalregister.com](http://www.chemicalregister.com)> Acesso em: 22 de agosto de 2012.

Um conjunto amplo de abordagens experimentais demonstra a similaridade entre os efeitos moleculares e comportamentais induzidos pela anfetamina e pelo MPD (PEREIRA; DEL BEL, 2010). Entre as manifestações estão o comportamento de hiperlocomoção e estereotípi, que podem ser induzidos por agonistas dopaminérgicos ou substâncias que induzem a liberação de dopamina (ITZHAK; ALI, 2006). Em roedores, a administração de MPD desenvolve alterações comportamentais e neuroquímicas semelhantes àquelas apresentadas em pacientes com THB (BARBOSA et al., 2011).

## 1.6 OLANZAPINA

A olanzapina (OLZ), um derivado tienobenzodiazepínico (Figura 2), é um agente psicotrópico que pertence a uma classe relativamente nova de agentes antipsicóticos de segunda geração, chamada de antipsicóticos atípicos (BHANA; PERRY, 2001). A OLZ foi o primeiro antipsicótico atípico a receber indicação para mania aguda, sendo que está aprovada não só para o tratamento da esquizofrenia, mas também para o tratamento da mania aguda, manutenção e prevenção de recaídas em pacientes tratados com sucesso com esse fármaco (NARASIMHAN; BRUCE; MASAND, 2007).

Figura 2 - Estrutura química da Olanzapina.



Fonte: Chemical Register. Disponível em: <[http:// www.chemicalregister.com](http://www.chemicalregister.com)> Acesso em: 22 de agosto de 2012.

Acredita-se que a OLZ exerça seu efeito antimaníaco e antipsicótico (MELTZER, 1996; BHANA; PERRY, 2001), predominantemente, devido a seu perfil de ligação multireceptorial incluindo uma maior afinidade por receptores de serotonina 5-HT<sub>2A</sub> do que para receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> (BHANA; PERRY, 2001). Além disso, também possui propriedades antagonistas de receptores muscarínicos, histamínicos e alfa-adrenérgicos (BYMASTER, 1999). Há indícios de que os antipsicóticos atípicos podem influenciar em disfunções neurocognitivas de forma mais favorável que os compostos convencionais (RIEDEL et al., 2007).

Neste sentido, a busca de novos medicamentos com atividade em vias de sinalização mais específica é uma área promissora no tratamento de uma doença crônica e complexa como o THB (FREY; FONSECA; MACHADO-VIEIRA 2004; KAPCZINSKI ; FREY; ZANNATTO, 2004).

## 2 JUSTIFICATIVA

O THB é um transtorno mental complexo, multifatorial e potencialmente grave associado a episódios recorrentes e elevada morbidade clínica (KILBOURNE et al, 2004). Sua prevalência estimada é de aproximadamente 1% ao longo da vida (MERIKANGAS et al., 2007).

Atualmente acredita-se que os transtornos de humor estão associados a alterações no sistema de comunicação entre os circuitos cerebrais reguladores do humor, e que antidepressivos e estabilizadores do humor ativam cascatas de sinalização que regulam a plasticidade e sobrevivência celular, com subsequente melhora gradativa da transmissão da informação nesses circuitos cerebrais (CASTRÉN, 2005; COYLE; DUMAN, 2003; NESTLER et al., 2002; MANJI; DREVETS; CHARNEY, 2001).

Um maior conhecimento acerca da neurobiologia dos transtornos do humor pode fornecer evidências fundamentais para o estudo de tratamentos profiláticos ou de manutenção da eutimia para pacientes com THB. Somado a isso, a importância em se delinear prejuízos cognitivos nos transtornos do humor é que, além de auxiliar na compreensão da fisiopatologia, pode-se oferecer ao paciente uma forma de acompanhamento adicional ao tratamento médico, cuja finalidade seria minimizar as interferências que as dificuldades nestes processos causam nas áreas social e ocupacional.

Pouco se conhece ainda sobre a eficácia da OLZ nos déficits de memória que comprometem o funcionamento ocupacional ou social dos pacientes com THB. Desta forma o trabalho que se dá neste momento é de relevância científica na obtenção de dados que possam ser utilizados para identificar a doença e traçar novas estratégias terapêuticas para seu controle.



### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

- Avaliar os efeitos comportamentais do tratamento agudo de olanzapina em animais tratados com metilfenidato.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar os efeitos dos tratamentos agudo com olanzapina, em diferentes doses, nas memórias de curta e longa duração através do teste de reconhecimento de objetos.

- Verificar se a olanzapina administrada aguda, em diferentes doses, exerce efeito antimaníaco no teste de habituação ao campo aberto.

## 4 MÉTODOS

### 4.1 PROCEDIMENTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Sul de Santa Catarina – UNISUL, sob protocolo 11.035.4.01.IV e obedeceu aos Princípios de Cuidados 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).

### 4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 80 ratos machos<sup>5</sup> da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*), pesando entre 200-300g, procedentes do Biotério da Universidade do Sul de Santa Catarina, campus de Tubarão. Os animais foram randomizados e alojados em grupos de quatro por gaiola, sendo identificados através de marcações na cauda.

Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos em temperatura controlada ( $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ ) e ciclo de luz artificial (12 horas claro/escuro), recebendo ração comercial padronizada para ratos de laboratório e água *ad libitum*. Os procedimentos foram realizados no período matutino (entre 6 e 8 horas), considerando a ritmicidade circadiana dos animais.

Os tratamentos farmacológicos e tarefas comportamentais foram integralmente realizados no Laboratório de Neurociências da Unisul, campus Tubarão.

### 4.3 DESENHO EXPERIMENTAL

Para caracterização do modelo animal de mania os ratos receberam a administração crônica e diária de metilfenidato na dose de 2,5 mg/kg, durante 7 dias consecutivos. A dose seguiu o estudo de Gaytan et al. (1996), que demonstrou hiperatividade em ratos após administração de metilfenidato.

---

<sup>5</sup> A escolha de ratos machos se deve pela evidência de que ratas fêmeas apresentam diferentes respostas comportamentais ao tratamento com psicoestimulantes de acordo com a fase hormonal (BECKER e CHA, 1989).

Vinte e quatro horas após a caracterização do modelo de mania, os animais receberam administração aguda de OLZ e foram divididos em dois grupos: a) animais que receberam OLZ na dose de 2 mg/kg ou solução salina (n=40) e b) animais que receberam OLZ na dose de 5 mg/kg ou solução salina (n=40). Cada grupo foi subdividido em quatro subgrupos (n=10): Subgrupo I (Sal + Sal), Subgrupo II (MPD + Sal), Subgrupo III (Sal + OLZ) e Subgrupo IV (MPD + OLZ).

A OLZ e o MPD foram dissolvidos em solução salina a 0,9% e administrados por via intraperitoneal.

#### 4.4 TESTES COMPORTAMENTAIS

##### 4.4.1 Teste de habituação ao campo aberto (TCA)

O TCA (*open field test*) foi utilizado para quantificar os movimentos locomotores e de exploração dos animais experimentais. Os movimentos locomotores (*crossings*) correspondem aos deslocamentos de um ponto a outro da arena. Os movimentos de exploração ou não locomotores (*rearings*) são aqueles que o animal pode realizar sem a necessidade de deslocamento como, por exemplo, elevação vertical e a auto-limpeza (*grooming*), que é caracterizada pela passagem das patas dianteiras sobre a cabeça. Em experimentos com roedores, estes comportamentos são essenciais para compreender o efeito de diferentes substâncias psicoestimulantes (PRUT; BELZUNG, 2003).

Os animais foram avaliados em um campo aberto de 40 x 60 cm, delimitado por quatro paredes com 50 cm de altura, sendo três de madeira e uma de vidro transparente. O piso do campo aberto foi dividido em 12 quadrantes iguais demarcados por linhas pretas. Ao final do procedimento experimental, 2 horas após a administração de OLZ ou solução salina, os animais foram submetidos à sessão treino, sendo cuidadosamente colocados no canto superior esquerdo do aparelho e permitidos a explorar o ambiente durante 5 minutos. Imediatamente após o treino, os animais voltaram para a caixa e a arena do campo aberto foi higienizada. A sessão teste foi realizada 24 horas após o treino, sendo que os procedimentos foram repetidos e os mesmos parâmetros quantificados.

#### 4.4.2 Teste de reconhecimento de objetos (TRO)

O TRO é utilizado para o estudo da memória de reconhecimento em animais experimentais. Este teste baseia-se na tendência dos roedores explorarem um objeto novo, sendo que o desempenho de reconhecimento é derivado do tempo gasto na exploração dos estímulos (TANG et al., 1999; REED et al., 1999; MOSES et al., 2005). Nenhuma recompensa ou estimulação foi realizada durante o teste. Os resultados foram utilizados para avaliação da memória de reconhecimento de curta e longa duração. O TRO vem sendo utilizado, cada vez mais, como ferramenta para avaliar os mecanismos envolvidos na formação de memórias declarativas (COYLE et al., 2009) e para avaliar efeitos de fármacos na memória (ROSA et al., 2003).

Duas horas após o tratamento com OLZ ou solução salina, na sessão treino, os animais foram colocados na arena contendo dois objetos idênticos ( $A_1$  e  $A_2$ ), fixados com fita adesiva no centro do campo aberto e separados por espaço suficiente para exploração de suas faces. Os animais foram colocados no quadrante superior esquerdo da arena, de costas para os objetos, e ficaram livres para explorá-los durante 5 minutos. A exploração foi definida como cheirar ou tocar o objeto com o nariz e/ou com patas dianteiras (BARICHELLO et al., 2007). Andar ou sentar em torno do objeto não foi considerado comportamento exploratório. O tempo gasto para explorar os objetos foi marcado em segundos.

Para avaliar a STM, 90 minutos após o treino, na sessão teste I foi colocado um novo objeto (B) e mantido um dos objetos idênticos (A). Como na sessão treino, os animais foram colocados no canto superior esquerdo da arena, de costas para os objetos e livres para explorá-los durante 5 minutos.

A LTM foi avaliada 24 horas após a sessão treino, através do teste II, sendo conduzida do mesmo modo que a sessão teste I, porém o animal foi apresentado a uma nova dupla de objetos (A e C), este último diferente dos objetos apresentados nas sessões de treino e teste I.

Um índice de preferência, a razão entre a quantidade de tempo gasto na exploração de qualquer um dos objetos (na sessão de treino) ou o objeto novo (sessão de teste) sobre o tempo total gasto explorando ambos os objetos, foi utilizado como uma medida de memória de reconhecimento. Assim, a proporção do tempo total que o animal gastou investigando o objeto novo representou o “índice de reconhecimento” expresso pela taxa  $T_B/(T_A + T_B)$ , onde  $T_A$  = tempo gasto

explorando o objeto familiar e  $T_{B \text{ ou } C}$  = tempo gasto explorando o objeto novo (SCHRÖDER et al., 2003).

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do programa estatístico SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL). Os dados do campo aberto foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo *post hoc Tukey*. Os dados referentes às tarefas de reconhecimento foram analisados por meio do teste de *Kruskal-Wallis* seguido do teste *U* de *Mann-Whitney* para múltiplas comparações. As comparações dentro do grupo foram feitas utilizando-se o teste de *Wilcoxon*. Em todos os casos a significância estatística foi considerada para valores de  $p < 0,05$ .

O número de animais em cada grupo está baseado em estudos prévios, para uma diferença de até 20% nos parâmetros a serem analisados entre os grupos, com uma variância de no máximo 10% entre as médias calculou-se um tamanho de amostra, para um erro alfa de 0,05 e um poder de 80%.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 TESTE DE HABITUAÇÃO AO CAMPO ABERTO

No teste de habituação ao campo aberto foram analisados os seguintes parâmetros: número de cruzamentos (*crossing*), número de movimentos de exploração (*rearing*) e número de movimentos de auto-limpeza (*grooming*).

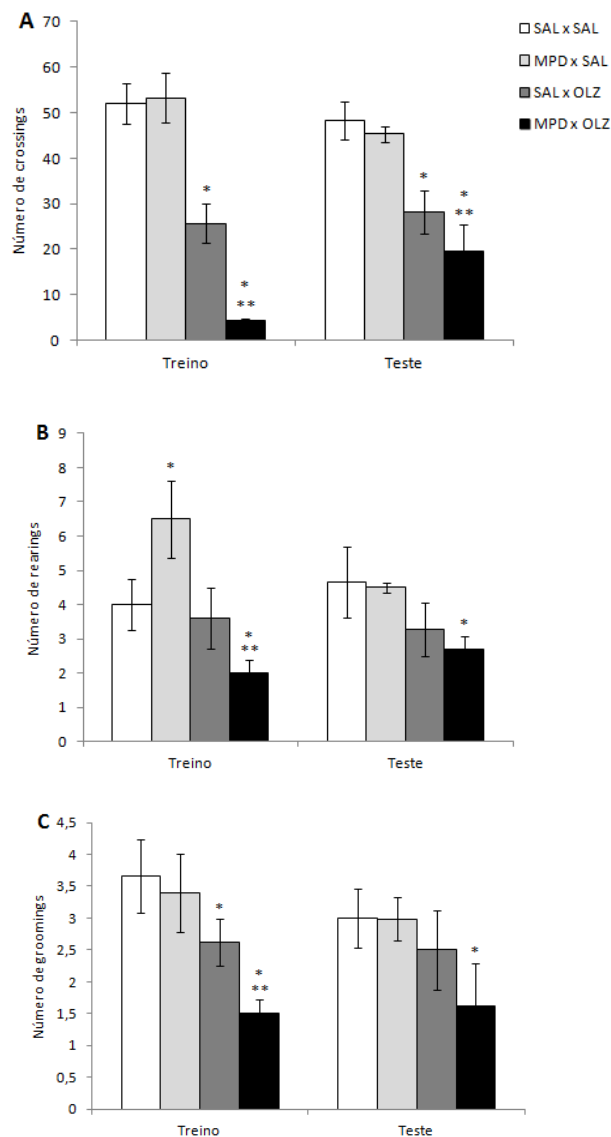
#### 5.1.1 Grupo OLZ 2 mg/kg

A **Figura 3** representa a comparação entre os parâmetros de atividade motora horizontal, vertical e número de movimentos de auto-limpeza nos diferentes grupos experimentais. Os resultados mostraram que houve uma diminuição significativa no número de *crossings* entre os animais que receberam olanzapina nas sessões de treino e teste, com ou sem o tratamento prévio de metilfenidato, quando comparados ao grupo controle. Quando comparados os grupos que receberam metilfenidato entre si, respectivamente MPD x Sal e MPD x OLZ, os resultados apontam diminuição significativa no número de movimentos locomotores horizontais em todas as sessões do teste de habituação ao campo aberto (Figura 3A).

O metilfenidato aumentou significativamente o número de *rearings* na sessão treino, quando comparado ao grupo controle e a olanzapina reverteu esta hiperlocomoção nas sessões treino e teste, quando comparados ao grupo controle e ao grupo que recebeu tratamento prévio com metilfenidato (Figura 3B).

O número de movimentos de auto-limpeza também mostrou-se diminuído significativamente entre os animais que receberam olanzapina após o uso de solução salina (sessão treino) ou metilfenidato (sessão treino e teste), quando comparados ao grupo controle. Além disso, quando comparados os grupos que receberam metilfenidato, respectivamente MPD x Sal e MPD x OLZ, o número de *groomings* foi menor significativamente na sessão treino (Figura 3C).

Figura 3 - Movimentos locomotores avaliados no teste de habituação ao campo aberto entre grupos que receberam olanzapina na dose de 2mg/kg.



Legenda: Comparação entre treino e teste dos parâmetros de atividade motora horizontal (*crossing*) (A), vertical (*rearing*) (B) e movimentos de auto-limpeza (*grooming*) (C). \* Diferença significativa quando comparado ao grupo controle (Sal x Sal) e \*\* quando comparados os grupos MPD x Sal e MPD x OLZ (Tukey:  $p < 0,05$ ).

Fonte: Elaboração da autora, 2012.

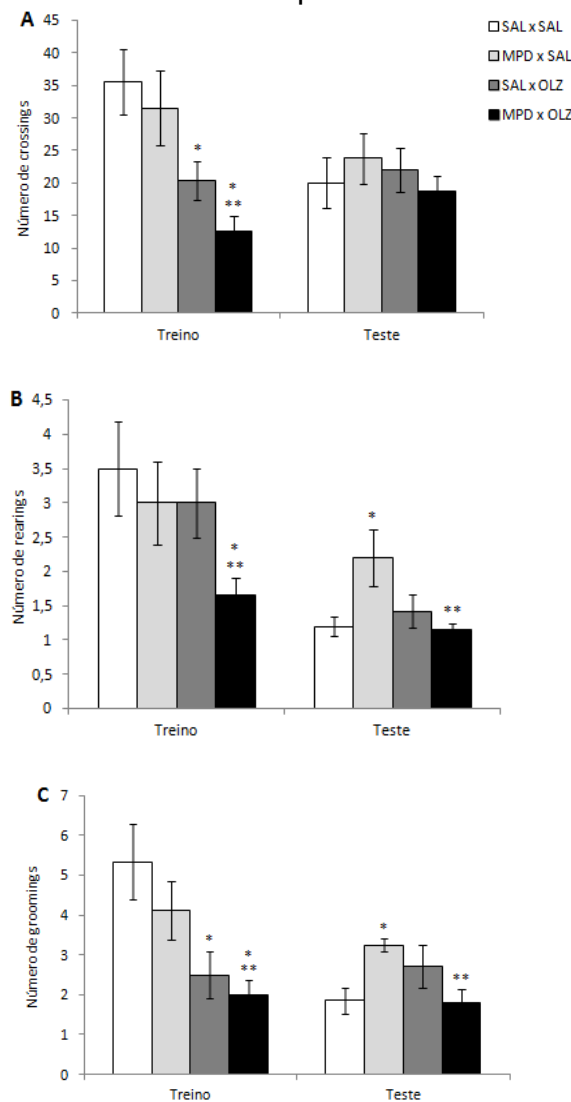
### 5.1.2 Grupo OLZ 5 mg/kg

A **Figura 4** ilustra a comparação entre as sessões treino e teste em relação à atividade motora horizontal, vertical e número de movimentos locomotores. Os resultados mostraram diminuição significativa no número de *crossings* entre os animais que receberam olanzapina com ou sem tratamento prévio de metilfenidato, na sessão treino, quando comparados ao grupo controle (Figura 4A).

O número de *rearings* foi menor entre os animais que receberam olanzapina após tratamento com metilfenidato em ambas as sessões do teste de habituação ao campo aberto, revertendo a hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, observado, especialmente, na sessão teste (Figura 4B).

O metilfenidato foi capaz de aumentar significativamente o número de *groomings* na sessão teste, quando comparados ao grupo controle. Este parâmetro foi revertido pela administração de olanzapina, observados nas sessões de treino e teste (Figura 2C).

Figura 4 - Movimentos locomotores avaliados no teste de habituação ao campo aberto entre grupos que receberam olanzapina na dose de 5 mg/kg.



Legenda: Comparação entre Treino e Teste dos parâmetros de atividade motora horizontal (*crossing*) (A), vertical (*rearing*) (B) e movimentos de auto-limpeza (*grooming*) (C). \* Diferença significativa quando comparado ao grupo controle (Sal x Sal) e \*\* quando comparados os grupos MPD x Sal e MPD x OLZ (Tukey:  $p < 0,05$ ).

Fonte: Elaboração da autora, 2012.



## 5.2 TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS

Para avaliar os efeitos da administração aguda de olanzapina nas doses de 2 mg/kg e 5 mg/kg sobre a memória de reconhecimento, os animais foram submetidos ao teste de reconhecimento de objetos em dois tempos diferentes: 90 minutos (para avaliação da memória de curta duração) e 24 horas (para avaliação da memória de longa duração) após a sessão treino.

### 5.2.1 OLZ 2 mg/kg

Os resultados mostraram que o tempo total de exploração dos objetos durante a sessão treino não foi diferente estatisticamente entre os grupos experimentais (Tabela 1), indicando que a administração de olanzapina duas horas antes da sessão treino não produziu nenhum efeito na memória.

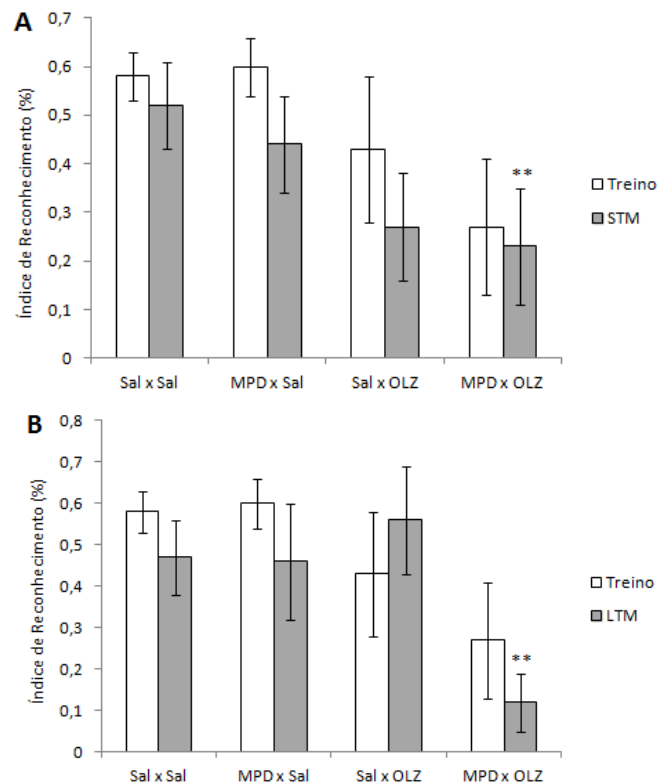
Tabela 1 - Tempo total de exploração de ambos os objetos na sessão treino no teste de reconhecimento de objetos em ratos adultos que receberam olanzapina (2 mg/kg), acompanhados ou não do tratamento prévio com metilfenidato.

<b>Grupos</b>	<b>Tempo total de exploração dos objetos na sessão treino (s)*</b>
Sal x Sal (n=10)	6,90±1,05
MPD x Sal (n=10)	6,80±1,31
Sal x OLZ (n=10)	2,20±0,95
MPD x OLZ (n=10)	1,48±0,47

\* Dados expressos como Média ± Erro Padrão.  
Fonte: Elaboração da autora, 2012.

O teste de Wilcoxon comparou o índice de reconhecimento entre as sessões treino e teste dentro dos grupos indicando que não houve diferença estatisticamente significativa neste parâmetro. No entanto, quando comparados os grupos MPD x Sal e MPD x OLZ, os resultados mostraram que os animais que receberam olanzapina após o tratamento prévio de metilfenidato apresentaram prejuízo nas memórias de curta (Figura 5A) e de longa duração (Figura 5B), indicado pelo menor índice de reconhecimento.

Figura 5 - Índice de Reconhecimento do Objeto Novo entre grupos que receberam olanzapina na dose de 2 mg/kg.



Legenda: Efeito da administração aguda de olanzapina, na dose de 2 mg/kg, associada ou não ao tratamento prévio com metilfenidato, sobre a retenção da memória de curta duração (90 minutos) (A) e memória de longa duração (24 horas) (B). \*\* Diferença significativa da comparação entre os grupos MDP x Sal e MPD x OLZ (Wilcoxon:  $p < 0,05$ ).

Fonte: Elaboração da autora, 2012.

### 5.2.2 OLZ 5 mg/kg

Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos experimentais quando avaliado o tempo total de exploração dos objetos durante a sessão treino (Tabela 2).

Tabela 2 - Tempo total de exploração de ambos os objetos na sessão treino no teste de reconhecimento de objetos em ratos adultos que receberam metilfenidato, acompanhados ou não da administração aguda de olanzapina (5 mg/kg).

Grupos	Tempo total de exploração dos objetos na sessão treino (s)*
--------	---

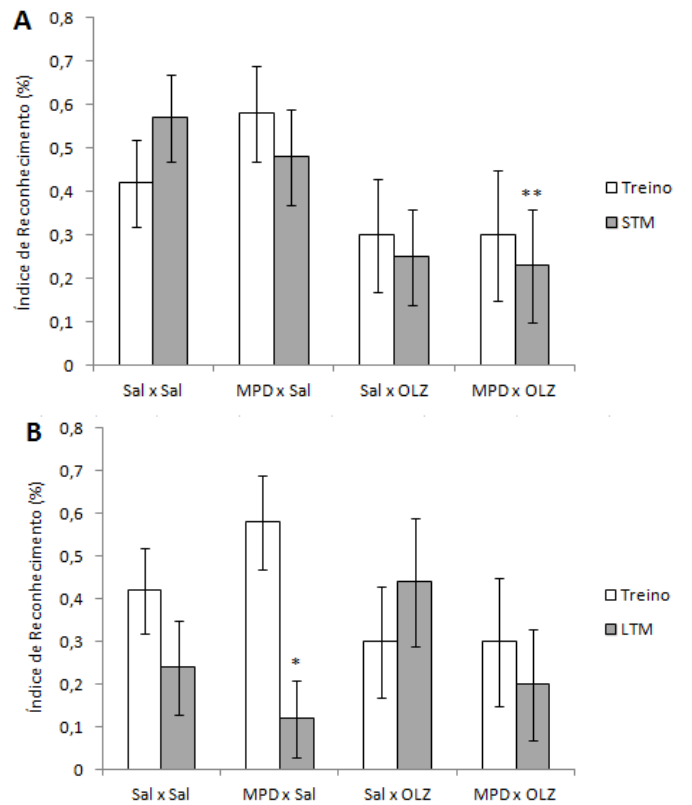
Sal x Sal (n=10)	3,72±0,91
MPD x Sal (n=10)	7,30±1,62
Sal x OLZ (n=10)	3,10±1,49
MPD x OLZ (n=10)	3,02±0,53

\* Dados expressos como Média ± Erro Padrão.

Fonte: Elaboração da autora, 2012.

O teste de *Wilcoxon* comparou o índice de reconhecimento entre as sessões treino e teste dentro dos grupos indicando que o metilfenidato seguido de solução salina produziu efeito amnésico na memória de longa duração (Figura 6B). Quando comparados os grupos MPD x Sal e MPD x OLZ, os resultados mostraram que os animais que receberam olanzapina após o tratamento prévio de metilfenidato apresentaram prejuízo na memória de curta (Figura 6A) sem afetar a memória de longa duração.

Figura 6 - Índice de Reconhecimento do Objeto Novo entre grupos que receberam olanzapina na dose de 5 mg/kg.



Legenda: Efeito da administração aguda de olanzapina, na dose de 5 mg/kg, associada ou não ao tratamento prévio com metilfenidato, sobre a retenção da memória de curta duração (90 minutos) (A) e memória de longa duração (24 horas) (B). \* Diferença significativa entre as sessões treino e teste de cada grupo. \*\* Diferença significativa da comparação entre os grupos MDP x Sal e MPD x OLZ (Wilcoxon:  $p < 0,05$ ).

Fonte: Elaboração da autora, 2012.

## 6 DISCUSSÃO

Diversos estudos sugerem que pacientes com THB apresentam déficits cognitivos, seja na fase aguda, seja na remissão dos sintomas (TORRES; BOUDREAU; YATHAM, 2007; KAUER-SANT'ANNA et al., 2009; MALHI et al., 2007). A terapêutica farmacológica do THB, apesar de muito estudada nos últimos tempos, ainda não está bem definida e, neste sentido, estabelecer um tratamento eficaz que mantenha a doença sob controle e reduza as chances de ocorrência dos episódios ainda é um desafio. É nesse contexto que a olanzapina emerge como tratamento em potencial para o THB.

O objetivo geral deste estudo foi avaliar os efeitos comportamentais da administração aguda (i.p.) de olanzapina em um modelo animal de mania a partir da administração crônica de metilfenidato. Os resultados mais relevantes deste trabalho mostraram que a olanzapina exerce efeito antimaníaco observado no número de cruzamentos, movimentos de exploração e de auto-limpeza avaliados no teste de habituação ao campo aberto, de forma semelhante entre as doses de 2 mg/kg e 5 mg/kg. No entanto, a administração aguda de olanzapina, de forma mais expressiva na dose de 2 mg/kg, apresentou efeito amnésico, representado pelo menor índice de reconhecimento observado no teste de reconhecimento de objetos.

A indução, em roedores, de hiperatividade por psicoestimulantes tem sido considerado o modelo animal de mania mais bem estabelecido até o presente (MACHADO-VIEIRA et al., 2004; NESTLER et al., 2002; GOULD et al., 2004; FREY et al., 2006; BARBOSA et al., 2011). A hiperatividade locomotora é mediada pelo aumento da transmissão dopaminérgica em algumas regiões cerebrais (FREY et al., 2006), por isso, muitos sinais e sintomas do THB podem ser reproduzidos em humanos e em animais através da administração de estimulantes dopaminérgicos, como o metilfenidato (BARBOSA et al., 2011). Neste estudo, o efeito hiperlocomotor induzido pelo metilfenidato corrobora com estudo prévio de Barbosa et al.(2011), que reflete, sobretudo, a hiperatividade do sistema dopaminérgico – especialmente nas vias mesolímbica e mesocortical – que aumenta de forma significativa a concentração de dopamina nas sinapses (PEREIRA; DEL BEL, 2010; LEONARD et al., 2004), ou ainda, apresenta-se, neste caso, como sintoma maníaco associado à ativação destas mesmas vias (MEYER; QUENZER, 2005). Além disso, os resultados

obtidos no teste de habituação ao campo aberto confirmam que este modelo animal é capaz de mimetizar características clínicas dos pacientes com THB.

Os efeitos da olanzapina no bloqueio da hiperlocomoção observado agudamente no presente estudo é similar ao observado nos estudos clínicos, em que vários pacientes já apresentam melhora do quadro maníaco nos primeiros dias de tratamento (HEIDEN et al., 1999; GIANNINI et al., 2000), embora estes estudos tenham empregado esquema de associação com estabilizadores de humor. Um estudo prévio realizado por Van der Zwaal et al. (2010), mostrou que a olanzapina administrada durante nove dias consecutivos é capaz de reduzir atividade locomotora demonstrando um efeito sedativo. Isto porque, antipsicóticos atípicos, tais como a risperidona, clozapina ou olanzapina, apresentam propriedades antimaniacas em adição a suas propriedades antipsicóticas, com menos risco de efeito colateral extrapiramidal que os fármacos típicos (GHAEMI; GOODWIN, 2000).

Déficits de memória e outros parâmetros cognitivos já foram descritos em pacientes com THB (TORRES; BOUDREAU; YATHAM, 2007). Pacientes eutímicos avaliados após um único episódio de mania apresentaram prejuízos na atenção, nas funções executivas e no escore total de memória em comparação com sujeitos saudáveis. Além disso, eles obtiveram melhores resultados em comparação com pacientes eutímicos avaliados após múltiplos episódios recorrentes de humor com relação à atenção e função executiva (ELSHAHAWI et al., 2010). Neste contexto, avaliamos as memórias de curta e longa duração em animais submetidos ao modelo de mania e tratados com olanzapina.

A olanzapina está associada a melhorias no processamento de informação, atenção e memória de trabalho em roedores e primatas não-humanos de acordo com estudos de Winstanley et al. (2003) e Terry et al. (2006), principalmente devido à sua alta afinidade por receptores 5HT<sub>2A</sub>. No entanto, os resultados deste estudo não mostraram efeitos favoráveis no desempenho cognitivo de animais tratados agudamente com olanzapina e avaliados no teste de reconhecimento de objetos. Esta inconsistência pode ter sido devido ao emprego de uma dose limítrofe para este efeito, sendo necessária uma curva dose-reposta para verificar esta possibilidade. É possível que este prejuízo possa estar relacionado por uma ativação excessiva de receptores D1 e D2 de dopamina, envolvendo a sinalização pós-sináptica dependente da proteína fosfatase I (PP1) (XU et al., 2010),

causada pela administração de metilfenidato e que, neste caso, as doses de 2mg/kg ou 5mg/kg de olanzapina não foram capazes de reverter.

A dopamina é capaz de regular a expressão de proteínas essenciais para o estabelecimento de plasticidade neuronal duradoura e já foi associada a mecanismos de memória (ROSSATO et al., 2009). Conforme evidenciado por Li et al. (2010), o desbalanço nos níveis de dopamina causa déficit na evocação de uma memória espacial associativa. Embora este mecanismo tenha sido descrito para um tipo específico de memória, ele sugere a necessidade de um controle dos níveis dopaminérgicos na fenda sináptica para um bom funcionamento dos mecanismos envolvidos na consolidação e evocação da memória.

Diferentes estruturas encefálicas são ativadas em tipos de memória distintos, havendo, inclusive um controle temporal do envolvimento de diferentes áreas durante o período de consolidação das mesmas (IZQUIERDO et al., 1997). Baseando-se nas diferenças farmacológicas existentes entre os testes comportamentais utilizados neste estudo, as diferenças observadas no efeito da olanzapina sobre cada um dos testes tornam-se justificáveis e sugerem novos estudos para o esclarecimento dos mecanismos envolvidos.

Por outro lado, o comprometimento da função motora também pode ter influenciado significativamente no desempenho durante o teste de reconhecimento de objetos. Isto pode explicar o fato de que os animais que receberam metilfenidato, seguido de solução salina, apresentaram aumento no tempo total de exploração dos objetos na sessão treino quando comparados ao grupo que recebeu olanzapina, sendo, provavelmente, consequência da hiperatividade motora induzida pelo metilfenidato. Resultado semelhante foi demonstrado no estudo de Ortega-Alvaro, Gibert-Rahola, Micó (2006), onde animais submetidos ao tratamento agudo, trinta minutos após a administração de olanzapina, apresentaram redução na porcentagem de acertos nas tarefas, indicado pelo aumento significativo dose dependente.

Por fim, em conjunto à crescente evidência de que o THB está associado à déficit de funções cognitivas (LIBERTY et al., 2009) e ainda, que esse déficit é mais acentuado nas crises, mas permanece mesmo com a redução do sintomas psiquiátricos, este estudo não encontrou associação entre efeitos indicadores de mania a partir da administração de metilfenidato e melhor desempenho no teste de memória em animais experimentais que receberam tratamento agudo de olanzapina.

Neste sentido, mais estudos são necessários para analisar a natureza diferencial de marcadores específicos do THB em modelos animais metodologicamente adequados para estas manifestações.



## **7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS**

Apesar de novas descobertas e avanços no estudo das bases neurobiológicas e abordagens terapêuticas no THB, elevadas taxas de recorrência, sintomas subsindrômicos persistentes e refratariedade terapêutica são aspectos clínicos desafiadores nesta doença.

Sendo assim, a busca por substâncias capazes de induzirem uma rápida e sustentável melhora do quadro clínico deste transtorno se faz necessário. Se estudos futuros replicarem nossos achados em relação ao efeito antimaníaco da olanzapina e ainda, conseguirem associar este efeito a uma melhora no desempenho cognitivo, este fármaco poderá reforçar sua superioridade em relação a outros agentes estabilizadores de humor usados tipicamente e representar uma opção de tratamento efetiva para o THB.

No presente, estamos finalizando uma série de experimentos com esse modelo avaliando possíveis alterações neuroquímicas em animais submetidos ao modelo de mania e tratados aguda e cronicamente com olanzapina. Nosso objetivo é testar a hipótese de que o efeito antimaníaco da olanzapina possa influenciar o funcionamento cognitivo destes animais.

## REFERÊNCIAS

- Alves VM, Silva ACP, Melo Neto VL, Andrade TG, Nardi AE. Associations between genetic polymorphisms and bipolar disorder. *Rev Psiquiatr. Clin.* 2012;39(1):34-9.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*, (4th ed., text revision). Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000.
- Andreazza AC, Cassini C, Rosa AR, Leite MC, de Almeida LM, Nardin PC, Cunha AB, Cereser KM, Santin A, Gottfried C, Salvador M, Kapczinski F, Goncalves CA. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *J Psychiatr Res.* 2007;41(6):523-9.
- Balanzá-Martínez V, Selva G, Martínez-Arán A, Prickaerts J, Salazar J, González-Pinto A et al. Neurocognition in bipolar disorders--a closer look at comorbidities and medications. *Eur J Pharmacol.* 2010;626(1):87-96.
- Baldessarini RJ, Hennen J, Wilson M, Calabrese J, Chengappa R, Keck PE Jr. et al. Olanzapine versus placebo in acute mania: treatment responses in subgroups. *J Clin Psychopharmacol.* 2003;23(4):370-6.
- Barbosa FJ, Hesse B, Almeida RB, Baretta IP, Boerngen-Lacerda R, andreatini R. Magnesium sulfatate and sodium valproate block methylphenidate-induced hyperlocomotion, and animal model of mania. *Pharmacol Rep.* 2011;63:64-70.
- Barichello T, Martins MR, Reinke A, Constantino LS, Machado RA, Valvassori SS et al. Behavioral deficits in sepsis-surviving rats induced by cecal ligation and perforation. *Braz J Med Biol Res.* 2007;40(6):831-7
- Becker JB, Cha JH. Estrous cycle-dependent variation in amphetamine-induced behaviors and striatal dopamine release assessed with microdialysis. *Behav Brain Res.* 1989; 35: 117-25.
- Belmaker RH. Medical progress: Bipolar disorder. *N Engl J Med.* 2004;351:476-86.
- Benabarre A, Vieta E, Martínez-Arán A, Garcia-Garcia M, Martín F, Lomeña F et al. Neuropsychological disturbances and cerebral blood flow in bipolar disorder. *Aust N Z J Psychiatry.* 2005;39(4):227-34.
- Berk M, Dodd S, Kauer-Sant`anna M, et al. Dopamine dysregulation syndrome: implications for a dopamine hypothesis of bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica Supp.* 2007;(434):41-9.
- Bhana N, Perry CM. Olanzapine: a Review of its Use in the Treatment of Bipolar I Disorder. *CNS Drugs.* 2001;15: 871-904.

Calabrese V, Scapagnini G, Giuffrida-Stella AM, Bates TE; Clark JB. Mitochondrial involvement in brain function and dysfunction: relevance to aging, neurodegenerative disorders and longevity. *Neurochem Res*. 2001;26:739-64.

Carrie EB, Woogen M, Glahn DC. Neurocognitive and neuroimaging predictors of clinical outcome in bipolar disorders. *Curr Psychiatry*. 2010;12(6):499-04

Castrén E. Is mood chemistry? *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(3):241-6.

Chemical Register. [acesso em 2012 Ago 22]. Disponível em: <http://www.chemicalregister.com/>

Cheniaux E. The pharmacological treatment of bipolar disorder: a systematic and critical review of the methodological aspects of modern clinical trials. *Rev Bras Psiquiatr*. 2011;33(1):72-80.

Connolly KR, Thase ME. The clinical management of bipolar disorder: a review of evidence-based guidelines. *Prim Care Companion CNS Disord*. 2011;13(4).

Corrêa C; Amboni G; Assis LC; Martins MR; Kapczinski F; Streck EI et al.. Effects of lithium and valproate on hippocampus citrate synthase activity in an animal model of mania. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*. 31:887–91. 2007.

Coyle JT, Duman RS. Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments neuron. *Neuron*. 2003;38(2):157-60.

Coyle P, Tran N, Fung JN, Summers BL, Rofe AM. Maternal dietary zinc supplementation prevents aberrant behaviours in an object recognition task in mice offspring exposed to LPS in early pregnancy. *Behav Brain Res*. 2009;197(1):210-8.

Dager SR, Friedman SD, Parow A, Demopulos C, Stoll AL, Lyoo IK; et al. . Brain metabolic alterations in medication-free patients with bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2004; 61: 450-58.

Del-Porto A, Del-Porto KO. História da caracterização nosológica do transtorno bipolar. *Rev Psiquiatr Clin*. 2005;1:7-14.

Dix SL, Aggleton JP. Extending the spontaneous preference test of recognition: Evidence of object-location and object-context recognition. *Behav Brain Res*. 1999;99(2):191-200.

Duday Y. Some basic notions and their ontogenesis. In: *neurobiology of memory: concepts, findings, trends*. New York:Oxford UP, 1989.

Einat H. Modelling facets of mania – new directions related to the notion of endophenotypes. *J Psychopharmacol*. 2006;20(5):714-22.

Elshahawi HH, Essawi H, Rabie MA, Mansour M, Beshry ZA, Mansour AN. Cognitive fiction among euthymic I patients after a single manic episode versus recurrent episode. *J Affect Disord.* 2010;10-27

Fernandes BS, Gama CS, Ceresér KM, Yatham LN, Fries GR, Colpo G et al. Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: a systematic review and meta-regression analysis. *J Psychiatr Res.* 2011;45(8):995-1004.

Figueiredo AL, Souza L, Dell'Áglio Jr. JC; Argimon IIL. Use of psychoeducation in the treatment of bipolar disorder. *Rev Bras Ter Comport. cogn.* 11(1):15-24.  
Fleck DE, Shear PK, Strakowski SM. Processing efficiency and sustained attention in bipolar disorder. *J Int Neuropsychol Soc.* 2005;11(1):49-57.

Freeman MP, Stoll AL. Mood stabilizer combinations: a review of safety and efficacy. *Am J Psychiatry.* 1998;155:12-21.

Frey BN, Andrezza AC, Kunz M, Gomes FA, Quevedo J, Salvador M, Goncalves CA, Kapczinski F. Increased oxidative stress and DNA damage in bipolar disorder: a twin-case report. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007;31(1):283-5.

Frey BN, Fonseca MMR, Machado-Vieira R et. al. Anormalidades neuropatológicas e neuroquímicas no transtorno afetivo bipolar. *Rev Bras Psiquiatr.* 2004;26(3):180-8.

Frey BN, Valvassori SS, Réus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K et al. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J Psychiatry Neurosci.* 2006;31(5):326-32.

Gaytan O, Ghelani D, Martin S, Swann A, Dafny N. Dose response characteristics of methylphenidate on different indices of rats locomotor activity at the beginning of the dark cycle. *Brain Res.* 1996;15;727(1-2):13-21.

Geddes J, Goodwin G. Bipolar disorder: clinical uncertainty, evidence-based medicine and large-scale randomised trials. *Br J Psychiatry Suppl.* 2001;41:191-4.

Geinisman Y. Structural synaptic modifications associated with LTP and behavioral learning. *Cereb Cortex.* 2000;10:52-62.

Ghaemi SN, Goodwin FK. Use of atypical antipsychotic agents in bipolar and schizoaffective disorders: review of the empirical literature. *J Clin Psychopharmacol* 1999;19:453-61.

Giannini A J, Naconeczie AM, Melemis SM, Ventresco J, Condon M. Magnesium oxide aumentation of verapamil maintenance therapy in mania. *Psychiatry Res.* 2000, 93, 83-7.

Goodwin FK, Jamison KR. *Manic-Depressive Illness: Bipolar and Recurrent Unipolar Disorders.* 2ed. Nova York: Oxford University Press, 2007.

Gould TD, Quiroz JA, Singh J, Zarate CA, Manji HK. Emerging experimental therapeutics for bipolar disorder: insights from the molecular and cellular actions of current mood stabilizers. *Mol Psychiatry*. 2004;9(8):734-55.

Greenhill LL, Findling RL, Swanson JM. A double-blind, placebo-controlled study of modified-release methylphenidate in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics*. 2002;109(3):E39.

Guille C, Sachs GS, Ghaemi SN. A naturalistic comparison of clozapine, risperidone, and olanzapine in the treatment of bipolar disorder. *J Clin Psychiatry*. 2000;61:638-42.

Haldane M, Frangou S. Maudsley Bipolar Disorder Project: insights sobre o papel do cortex pré-frontal em pacientes com transtorno de humor bipolar tipo I. *Rev Psiquiatr Rio Grande do Sul*. 2005;27(3):241-50

Heiden A, Frey R, Presslich O, Blasbichler T, Smetana R, Kasper S: Treatment of severe mania with intravenous magnesium sulphate as a supplementary therapy. *Psychiatry Res*, 1999, 89, 239-46.

Izquierdo I. Memória. Porto Alegre: ArtMed, 2002.

Izquierdo I, Quillfeldt JA, Zanatta MS, Quevedo J, Schaeffer E, Schmitz PK et al. Sequential role of hippocampus and amygdala, entorhinal cortex and parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. *The European Journal of Neuroscience*. 1997;9(4):786-93.

Izquierdo I, Izquierdo LA, Barros DM, Mello e Souza T, de Souza MM, Quevedo J, Rodrigues C et al. Differential involvement of cortical receptor mechanisms in working, short-and long-term memory. *Behav Pharmacol*. 1998;9(5-6):421-7.

Itzhak Y; Ali S.F. Role of nitrenergic system in behavioral and neurotoxic effects of amphetamine analogs. *Pharmacol Ther* 2006; 109:246-262.

Johnston-Wilson NL, Sims CD, Hofmann JP, Anderson L, Shore AD, Torrey EF, Yolken RH. Disease-specific alterations in frontal cortex brain proteins in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Mol Psychiatry*. 2000;5(2):142-9.

Judd LL; Akiskal HS; Schettler PL. The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2002;59:530-37.

Judd LL, Akiskal HS. The prevalence and disability of bipolar spectrum disorders in the US population: re-analysis of the ECA database taking in account subthreshold cases. *J Affect Disord*. 2003;73(1-2):123-31.

Justo LP, Calil HM. Intervenções psicossociais no transtorno bipolar. *Ver Psiquiatr Clin*. 2004;31(2):91-9.

Kapczinski F, Frey BN, Zannatto V. Fisiopatologia do transtorno afetivo bipolar: o que mudou nos últimos 10 anos? *Rev Bras Psiquiatr.* 2004; 26(3):17-21.

Kapczinski F et al. Pharmacological Treatment of Bipolar Disorder: Evidence from Randomized Clinical Trials. *Rev Psiquiatr Clin.* 2005;32(1): 34-8.

Kauer-Sant'Anna M, Kapczinski F, Andrezza AC, Bond DJ, Lam RW, Young LT et al. Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2009;12(4):447-58.

Kilbourne AM, Cornelius JR, Han X, Pincus HA, Shad M, Salloum I et al. Burden of general medical conditions among individuals with bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2004;6(5):368-73.

Konradi C; Eaton M; Macdonald ML; Walsh J; Benes FM; Heckers S. Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry.* 2004; 61:300-8.

Kupfer DJ. The increasing medical burden in bipolar disorder. *JAMA.* 2005;293(20):2528-30.

Leonard BE, McCartan D, White J, King DJ. Methylphenidate: a review of its neuropharmacological, neurophysiological and adverse clinical effects. *Hum Psychopharmacol.* 2004;19:151-180.

Li F, Wang LP, Shen X, Tsien JZ. Balanced dopamine is critical for pattern completion during associative memory recall. *PLoS One.* 2010;59(10):15401.

Liberty HS, Lori LA, Jennifer T, Susan YB, Owen RP, Jeffrey F et al. Alterations in functional activations in euthymic bipolar disorder and schizophrenia during a working memory task. *Hum Brain Mapp.* 2009;30(12):3958-69.

Lima MS, Tassi J, Novo IP, Mari JJ. Epidemiologia do transtorno bipolar. *Ver Psiquiatria Clin.* 2005; 32(1):15-20.

Lopez AD, Murray CJ. The global burden of disease, 1990-2020. *Nat Med.* 1998;4(11):1241-3.

Lotufo Neto F. Terapia comportamental cognitiva para pessoas com transtorno bipolar. *Rev Bras Psiquiatr.* 2004;26(3):44-6.

Machado-Vieira R, Ceresér KMC; Frey BN, Soares JC. Transtorno do humor bipolar. In: Kapczinski F, Quevedo J, Izquierdo I: *Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos.* Porto Alegre: Artmed; 2004.

Machado-Vieira R, Bressan RA, Frey B, Soares JC. As bases neurobiológicas do transtorno bipolar. *Rev Psiquiatr Clin.* 2005;32( 1):28-33.

Machado-Vieira, Rodrigo; Soares, Jair C. Transtornos de humor refratários a tratamento. *Rev Bras Psiquiatr.* 2007; 29(2):48-54.

- Macritchie KA, Geddes JR, Scott J, Haslam DR, Goodwin GM. Valproic acid, valproate and divalproex in the maintenance treatment of bipolar disorder. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001;(3):3196.
- Malhi GS, Ivanovski B, Szekeres V, Olley A. Bipolar disorder: it's all in your mind? The neuropsychological profile of a biological disorder. *Can J Psychiatry*. 2004;49(12):813-9.
- Malloy-Diniz LF, Neves F, Corrêa H. Neuropsychological aspects of bipolar disorder. *Rev Bras Psiquiatr*. 2009;31(2):183-5.
- Manji HK, Drevets WC, Charney DS. The cellular neurobiology of depression. *Nat Med*. 2001;7(5):541-7.
- Martínez-Arán A, Torrent C, Solé B, Bonnín CM, Rosa AR, Sánchez-Moreno J, Vieta E. Functional remediation for bipolar disorder. *Clin Pract Epidemiol Ment Health*. 2011;7:112-6.
- Mayne ST. Antioxidants nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr*. 2003;133(3):933-40.
- Mcgaugh JL. Memory – A century of consolidation. *Science*. 2000;287-51.
- Meltzer HY. Pre-clinical pharmacology of atypical antipsychotic drugs: a selective review. *Br J Psychiatry Suppl*. 1996;(29):23-31.
- Merikangas KR, Akiskal HS, Angst J, Greenberg PE, Hirschfeld RM, Petukhova M, et al. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar spectrum disorder in the National Comorbidity Survey replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2007;64(5):543-52.
- Meyer JS, Quenzer FL. Psychomotor Stimulants: Cocaine and the Amphetamines In: *Psychopharmacol Drugs, The brain, and Behavior*. 2005; 276-296.
- Moses SN, Cole C, Driscoll I, Ryan JD. Differential contributions of hippocampus, amygdala and perirhinal cortex to recognition of novel objects, contextual stimuli and stimulus relationships. *Brain Res Bull*. 2005;67(1-2):62-76.
- Narasimhan M, Bruce TO, Masand P. Review of olanzapine in the management of bipolar disorders. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2007;3(5):579-87.
- Nestler EJ, Barrot M, Dileoni RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron*. 2002;28;34(1):13-25.
- Neves FS, Malloy-diniz LF, Barbosa IG, Brasil PM, Corrêa H. Bipolar disorder first episode and suicidal behavior: are there differences according to type of suicide attempt? *Rev Bras Psiquiatr*. 2009;31(2):114-18.

Okuma T, Kishimoto A. A history of investigation on the mood stabilizing effect of carbamazepine in Japan. *Psychiatry Clin Neurosci*. 1998;52(1):3-12.

Ongur D, Drevets WC, Price JL. Glial Reduction in the Subgenual Prefrontal Cortex in Mood Disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(22):13290-5.

Ortega-Alvaro A, Gibert-Rahola J, Micó JA. Influence of chronic treatment with olanzapine, clozapine and scopolamine on performance of a learned 8-arm radial maze task in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006;30(1):104-11.

Ozcan ME, Gulec M, Ozerol E, Polat R, Akyol O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *International Clinical Psychopharmacology*. 2004;19:89-95.

Pereira ACCI, Del Bel E. Metilfenidato - principal tratamento para o Déficit de Atenção e Hiperatividade: características neuroquímicas e seus efeitos em modelos experimentais. *Neurobiologia*. 2010;73(2):127-32.

Perry W, Minassian A, Paulus M, Young J, Kincaid MJ, Ferguson E et al. A reverse-translational study of dysfunctional exploration in psychiatric disorders. From mice to men. *Arch Gen Psychiatry*. 2009;66:1072-80.

Post RM. Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: clinical and theoretical implications. *J Psychiatr Rev*. 2007;41(12):979-90.

Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*. 2003;463(1-3):3-33.

Rajkowska G, Halaris A, Selemon LD. Reductions in neuronal and glial density characterize the dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2001;49(9):741-52.

Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV, Ghate M, Kale A, Sitasawad S, Wagh UV, Debsikdar VB, Mahadik SP. 2003. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Research* 2003;121:109-22.

Reed JM, Squire LR. Impaired recognition memory in patients with lesions limited to the hippocampal formation. *Behav Neurosci*. 1997;111(4):667-75.

Reed JM, Squire LR, Patalano AL, Smith EE, Jonides J. Learning about categories that are defined by object-like stimuli despite impaired declarative memory. *Behav Neurosci*. 1999;113(3):411-9.

Riedel M, Müller N, Spellmann I, Engel RR, Musil R, Valdevit R et al. Efficacy of olanzapine versus quetiapine on cognitive dysfunctions in patients with an acute episode of schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2007;257(7):402-12.

Rocca CCA, Lafer B. Alterações Neuropsicológicas no Transtorno Bipolar. *Rev Bras Psiquiatr*. 2006; 28(3):226-37.



Rodríguez L, De La Vega I, Torrijos S, Barabash A, Ancín I, Peláez JC et al. A study of verbal memory in a sample of euthymic patients with Bipolar Disorder. *Actas Esp Psiquiatr*. 2012;40(5):257-65.

Rosa RM, Flores DG, Appelt HR, Braga AL, Henriques JA, Roesler R. Facilitation of long-term object recognition memory by pretraining administration of diphenyl diselenide in mice. *Neurosci Lett* 2003;341: 217-20.

Rossato LI, Bevilaqua LR, Izquierdo I, Medina JH, Cammarota M. Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science*. 2009;325(5943):1017-20.

Rusakov DA, Davies HA, Harrison e, Diana G, Richter-Levin G, Bliss TVP et al. Ultrastructural synaptic correlates of spatial learning in rat hippocampus. *Neuroscience*. 1997;80:69-77.

Santin A; Cereser, K, Rosa, A. Adesão ao tratamento no transtorno bipolar. *Rev Psiquiatr Clin Supl*. 2005;.32(1):105-9.

Squire LR. Memory and the hippocampus: a synthesis of findings with rats, monkeys and humans. *Psychol Rev*. 1992;99:195-21

Schröder N, O'Dell SJ, Marshal JF. Neurotoxic methamphetamine regimen severely impairs recognition memory in rats. *Synapse*. 2003; 49:89-96.

Souza FGM. Tratamento do transtorno bipolar: eutimia. *Rev Psiquiatr Clin Supl*. 2005;1:63-70.

Stahl S, Lombardo I, Loebel A, Mandel FS. Efficacy of ziprasidone in dysphoric mania: pooled analysis of two double-blind studies. *J Affect Disord*. 2010;122(1-2):39-45.

Squire LR. Memory and the hippocampus: a syntesis of findings with rats, monkeys and humans. *Psychol Rev*. 1992;99:195-221.

Strakowski SM, Del Bello MP, Adler CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimageng fendengs. *Mol Psychiatry*. 2005;10:105-16.

Streck EL, Amboni G, Scaini G, Di-pietro PB, Rezin GT, Valvassori SSet al. Brain creatine kinase activity in an animal model of mania. *Life Sci*. 2008; 82: 424-29.

Tang J, Chen L, White PF, Wender RH, Naruse R, Kariger R et al. Use of propofol for office-based anesthesia: Effects of nitrous oxide on recovery profile. *J Clin Anesth*. 1999;11(3):226-30.

Terry AV Jr, Parikh V, Gearhart DA, Pillai A, Hohanadel E, Warner S, et al. Time dependent effects of haloperidol and ziprasidone on nerve growth factor, cholinergic neurons, and spatial learning in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006; 318:709–24.

Tohen M, Goldberg JF, Gonzalez-Pinto Arrillaga AM, Azorin JM, Vieta E, Hardy-Bayle MC et al. A. A 12-week, double-blind comparison of olanzapine vs haloperidol in the treatment of acute mania. *Arch Gen Psychiatry*. 2003;60(12):1218-26.

Torres IJ, Boudreau VG, Yatham LN. Neurophysiological functioning in euthymic bipolar disorder: a meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2007;(434):17-26.

Van der Zwaal EM, Luijendijk MC, Evers SS, La Fleur SE, Adan RA. Olanzapine affects locomotor activity and meal size in male rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010;97(1):130-7.

Vogel M; Pfeifer S; Schaub RT; Grabe HJ; Barnow S; Freyberger HJ et al. Decreased levels of dopamine D3 receptor mRNA in schizophrenic and bipolar patients. *Neuropsychobiology.* 2004;50: 305-310.

Winstanley CA, Chudasama Y, Dalley JW, Theobald DE, Glennon JC, Robbins TW (2003) Intra-prefrontal 8-OH-DPAT and M100907 improve visuospatial attention and decrease impulsivity on the five-choice serial reaction time task in rats. *Psychopharmacology Suppl*;167(3): 304–314.

Woolf, NJ. A structural basis for memory storage in mammals. *Prog Neurobiol.* 1998;55:59-77.

Xu TX, Ma Q, Spealman RD, Yao WD. Amphetamine modulation of long-term potentiation in the prefrontal cortex: dose dependency, monoaminergic contributions, and paradoxical rescue in hyperdopaminergic mutant. *J Neurochem.* 2010;115(6):1643-54.

Yatham LN, Goldstein JM, Vieta E. Atypical antipsychotics in bipolar depression: potential mechanisms of action. *J Clin Psychiatry.* 2005;66(5):40-8.

Yatham LN, Kennedy SH, Schaffer A, 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 2009. *Bipolar Disord.* 2009;11:225-55.

Zardo DS. Memória e os aspectos neurológicos da aprendizagem. *Rev Educ IDEAU* 2006;2(3):121-30.

Zaretsky AE, Rizvi S, Parikh, SV. How well psychosocial interventions work in bipolar disorders? *Can J Psychiatry.* 2007;52:14-21.