

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS

TIAGO PETRUCCI DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DO METABOLISMO ENERGÉTICO CEREBRAL EM
RATOS SUBMETIDOS AO MODELO ANIMAL DE MANIA
INDUZIDO POR OUABAÍNA**

CRICIÚMA (SC), JULHO DE 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

TIAGO PETRUCCI DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DO METABOLISMO ENERGÉTICO CEREBRAL EM
RATOS SUBMETIDOS AO MODELO ANIMAL DE MANIA
INDUZIDO POR OUABAÍNA**

**Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde para obtenção do Título de
doutor em Ciências da Saúde**

Orientador: Prof^o Dr. Emílio Luiz Streck

Co-orientador: Prof^o Dr. João Quevedo

CRICIÚMA (SC), JULHO DE 2010

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Acetil CoA - Acetil coenzima A

ADP – Adenosina difosfato

ATP – Adenosina Trifosfato

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro

CID-10 - Código Internacional de Doenças

CK - Creatina Quinase

CS - Citrato Sintase

DNA - Ácido Desoxirribonucléico

DSM-IV - manual de diagnóstico estatístico das perturbações mentais

FADH₂ - Flavina adenina dinucleotídeo

GABA - Ácido γ -aminobutírico

ICV - Intracerebroventricular

NAD⁺ - Adenina dinucleotídeo

NADH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo

pH - Potencial hidrogeniônico

RNA_m – Ácido ribonucléico mensageiro

SDH - Succinato Desidrogenase

SNC - Sistema Nervoso Central

TB - Transtorno Bipolar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. Transtorno Bipolar.....	11
1.2. Modelos Animais de Mania.....	16
1.2.1 Modelo Animal de Mania Induzido por Ouabaína.....	17
1.3 Metabolismo Energético Cerebral.....	19
1.3.2 Glicólise.....	19
1.3.3 Ciclo de Krebs	20
1.3.4 Cadeia Respiratória Mitocondrial.....	23
1.3.5 Creatina Quinase.....	25
1.4 Disfunção Metabólica e Transtorno Bipolar.....	27
2. OBJETIVOS.....	30
2.1 Objetivo Geral.....	30
2.2 Objetivo Específico.....	30
3. RESULTADOS	31
3.1 Artigo 1.....	31
3.2 Artigo 2.....	32
3.3 Artigo 3.....	33
4. DISCUSSÃO.....	34
5. CONCLUSÕES.....	40
6. REFERÊNCIAS.....	41

Dedico esta tese aos meus Pais que sempre ajudam a todos deixando, por muitas vezes, de realizar seus sonhos.

A vocês o meu muito obrigado. Honra-me em ser seu filho! Vocês são eternos vencedores !

AGRADECIMENTOS

Às alunas da pós-graduação Samira e Cristiane Correa, as quais muito me ensinaram no decorrer deste e de outros projetos.

A Gislaine, que participou, ajudou e ensinou muito nestes quatro anos de jornada.

Ao Paulo Silveira pela oportunidade de um dia ter sido seu professor e hoje um grande amigo e professor.

Às bolsistas do laboratório de Neurolab e do Fisiopat pelo apoio na confecção desse trabalho, sem o qual este não teria seus resultados.

A minha esposa, colega e companheira Luciana a qual teve sempre muita paciência e viveu a pior fase da minha vida, sempre dando o apoio necessário e incondicional.

Ao meu filho Gabriel, que por muitas vezes não teve a atenção necessária, mas que tudo o que eu fiz, foi também pensando no seu futuro.

Minhas irmãs, tias e tios que sempre me apoiaram na construção deste sonho, mesmo a distância.

A minha avó que além de uma grande amiga, me ajudou em todos os sentidos, para que eu pudesse chegar até aqui.

A todos os meus verdadeiros amigos, que sempre estiveram ao meu lado desde o início de minha formação escolar.

Ao meu co-orientado João Quevedo pelo conhecimento e sabedoria.

Ao meu Psiquiatra Sérgio Carlucci Cavalcante, que usa seu dom com arte, humildade e simplicidade.

Muito obrigado!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, Professor Dr. Emílio Streck, os maiores e mais sinceros agradecimentos. Sua confiança e orientação foram capazes de me fazer trilhar por um crescimento profissional que julgava impossível em tão pouco tempo e serviram de estímulo para vencer as minhas inseguranças neste processo.

Por sua amizade, principalmente. Pela compreensão silenciosa dos momentos difíceis pelos quais passei, permitindo que meu tempo interno fluísse, respeitosamente. Xuxa, a quem chamo de meu “pai” intelectual” que proporcionou a alegria de trabalharmos juntos, sendo a palavra orientador a melhor forma de defini-lo, pois é sob a sua tutela que guio os meus passos.

Muito obrigado!

RESUMO

O transtorno bipolar (TB) é um transtorno psiquiátrico caracterizado por episódios de mania e depressão. Além disso, está associado com altas taxas de morbidade, mortalidade e suicídio. A disponibilidade de um modelo animal poderá acelerar pesquisas sobre TB, para melhor compreender a fisiopatologia do mesmo e promover a possibilidade de *screening* farmacológicos pré-clínicos. A administração intracerebroventricular (i.c.v.) de ouabaína, um inibidor específico da Na^+ , K^+ -ATPase, induz mudanças comportamentais em ratos, e é usado com um modelo animal de TB. Muitas evidências sugerem que a mitocôndria tem um papel central em algumas doenças neuropsiquiátricas, tais como o TB. A citrato sintase (CS) é uma enzima localizada na matriz mitocondrial e representa um dos passos mais importantes do ciclo de Krebs. A creatina quinase (CK) é importante para homeostase energética por exercer funções de integração metabólica. A fosforilação oxidativa mitocondrial é o principal via de produção de ATP. A energia na forma de ATP é obtida na mitocôndria através de uma série de reações. No presente estudo nós avaliamos a atividade da CS, CK e complexos I, II, III e IV da cadeia respiratória mitocondrial em cérebro de ratos 1 hora e 7 dias após a administração de ouabaína 10^{-3} e 10^{-2} M. Neste trabalho nós usamos ratos adultos machos Wistar que receberam uma única injeção de ouabaína (10^{-3} e 10^{-2} M) ou salina. A atividade locomotora foi mensurada usando o teste de campo aberto. A atividade da CS, CK e cadeia respiratória mitocondrial foi avaliada em cérebro de ratos 1 hora e 7 dias após a administração de ouabaína 10^{-3} e 10^{-2} M. Nossos resultados mostraram que a atividade locomotora espontânea aumentou 1 hora após a administração de ouabaína, e que esta hiperlocomoção permaneceu por 7 dias. A atividade da CS foi inibida 1 hora após a administração de ouabaína no estriado nas concentrações de 10^{-3} e 10^{-2} M. Esta inibição permaneceu por 7 dias. Por outro lado, não foi observada nenhuma diferença na atividade da CS no hipocampo e córtex pré-frontal. A atividade da CK foi inibida no estriado, hipocampo e córtex pré-frontal 1 hora após a administração de ouabaína 10^{-3} e 10^{-2} M. Após 7 dias da administração de ouabaína, nenhuma alteração foi observada na atividade da CK no estriado e hipocampo. No entanto, foi demonstrado uma inibição desta enzima no córtex pré-frontal 7 dias após. Nossos resultados também mostraram que a atividade dos complexos I, III e IV foi aumentada no córtex pré-frontal, hipocampo e estriado 1 hora após a administração de ouabaína 10^{-3} e 10^{-2} M. No entanto, a atividade do complexo II foi ativada somente no córtex pré-frontal na concentração de 10^{-2} M. Por outro lado, nenhuma alteração significativa foi observada na atividade do complexo I 7 dias após a administração de ouabaína. No entanto, um aumento na atividade dos complexos II, III e IV foi observado somente no córtex pré-frontal na concentração de 10^{-2} M. Evidências sugerem que o prejuízo energético está envolvido no TB e nós especulamos que a redução do metabolismo cerebral pode estar relacionada com a fisiopatologia deste transtorno. Todavia, a ativação dos complexos enzimáticos pode ser uma possível limitação deste modelo animal de mania, sendo que provavelmente os pacientes apresentem prejuízo no metabolismo energético.

Palavras-chave: transtorno bipolar; ouabaína; citrato sintase; creatina quinase; cadeia respiratória mitocondrial

ABSTRACT

Bipolar disorder (BD) is a psychiatric disorder characterized by alternating episodes of mania and depression. Besides, this disease is associated with higher rates of morbidity, mortality and suicide. The availability of an animal model would accelerate BD research by improving understanding of the pathophysiology of the disorder and providing the possibility of preclinical pharmacologic screening. Intracerebroventricular (i.c.v.) administration of ouabain, a specific Na^+ , K^+ -ATPase inhibitor, induced behavioral changes in rats, a putative animal model for BD. Many lines of evidence suggest that mitochondria have a central role in some neuropsychiatric disease, such as BD. Citrate syntase (CS) is an enzyme localized in the mitochondrial matrix and represents one of the most important steps of Krebs cycle. Creatine kinase (CK) is important for normal energy homeostasis by exerting several integrated functions. Mitochondrial oxidative phosphorylation is the major ATP producing pathway. Energy, in the form of ATP, is obtained in the mitochondria through a series of reactions. In the present study we evaluated the activity of CS, CK and Complexes I, II, III and IV of mitochondrial respiratory chain in brain of rats 1 hour and 7 days after the administration of ouabain 10^{-3} and 10^{-2}M . In this work we used adult male Wistar rats that received a single injection of ouabain (10^{-3} and 10^{-2}M) or saline. Locomotor activity was measured using the open field test. CS, CK and mitochondrial respiratory chain activity were measured in the brain of rats 1 hour and 7 days after administration of ouabain 10^{-3} and 10^{-2}M . Our results showed that spontaneous locomotion was increased 1 hour after ouabain administration, and that the hyperlocomotion persists 7 days. CS activity was inhibited 1 hour after the administration of ouabain in the striatum at the doses of 10^{-3} and 10^{-2}M . This inhibition remains by 7 days. On the other hand, it was not observed any difference in CS activity in the hippocampus and prefrontal cortex. CK activity was inhibited in the striatum, hippocampus and prefrontal cortex 1 hour after administration of ouabain 10^{-3} and 10^{-2}M . After 7 days of ouabain administration, no alterations were observed in the CK activity in the striatum and hippocampus. However, was observed inhibition in this enzyme in the prefrontal cortex 7 days after. Our results also showed that complexes I, III and IV activity were increased in the prefrontal cortex, hippocampus and striatum 1 hour after the administration of ouabain 10^{-3} and 10^{-2}M . Moreover, complex II activity was increased only in the prefrontal cortex at the concentration of 10^{-2}M . On the other hand, no significant alterations were observed in complex I activity 7 days after the ouabain administration. However, an increase in complexes II, III and IV activities were observed only in the prefrontal cortex at the concentration of 10^{-2}M . Evidence suggests that energy impairment is involved in BD and speculate that the reduction of brain metabolism may be probably related to the pathophysiology of this disease. However, activation of complexes may suggest a possible limitation of this animal model of mania, since BD patients present metabolism impairment.

Key-words: bipolar disorder; ouabain; citrate syntase; creatine kinase; mitochondrial respiratory chain

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estrutura química da Ouabaína.....	17
Figura 2: Representação do Ciclo de Krebs.....	22
Figura 3: Cadeia respiratória mitocondrial.....	24
Figura 4: O sistema creatina quinase/fosfocreatina/creatina como sistema como sistema de tamponamento dos níveis de ATP celular.....	25

1. INTRODUÇÃO

1.1 TRANSTORNO BIPOLAR

Em 1899, Emil Kraepelin, observando os conhecimentos de psiquiatras franceses e alemães, que hoje é chamada de transtorno bipolar (TB), como sendo uma psicose maníaco-depressiva, onde mania e depressão eram apresentadas como estágios da mesma doença (Kaplan et al., 1997; Mackinnon, 2005). Posteriormente, segundo o do Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais (DSM-IV) e o Código Internacional de Doenças (CID-10), o transtorno foi designado como TB.

Epidemiologicamente, o TB afeta cerca de 1 a 4% da população mundial, com igualdade entre os sexos. O aparecimento dos sintomas é cada vez mais precoce, se desenvolve tipicamente em jovens, o que pode estar intimamente relacionado como o uso de substâncias ilícitas, como a cocaína e a anfetamina, o que podem favorecer o aparecimento da bipolaridade. Em alguns casos, o TB tem seus primeiros sintomas durante a infância ou em idades mais avançadas, além de que, muitas pessoas podem sofrer por anos sem serem corretamente diagnosticadas e tratadas (Baldessarini, 1999; Gould, 2002; Judd et al., 2002; Belmarker, 2004; Mitchell, 2004; Moreno et al., 2005; Kessler, 2007).

Conceitualmente, o TB se caracteriza por apresentar uma alternância de episódios depressivos e maníacos, onde a mania apresenta características específicas, dentre elas a falta de sono, irritação psicomotora, aumento da libido, com uma auto-estima grandiosa, pressão para falar, fuga de idéias, energia

abundante e muita facilidade em se distrair, devido a estes fatores o indivíduo tem um comportamento fora dos padrões sociais aceitáveis (El-Mallak, 1983; Frey, 2004; Moreno, 2005; Del Porto, 2005; Correa, 2007). Já a depressão é descrita como uma doença que leva a um decréscimo emocional, redução da fala, pessimismo, falta de energia principalmente para o que causa prazer, redução das habilidades físicas, lentidão dos pensamentos, da cognição e percepção, desilusões, alucinações e redução do nível de consciência e um estado melancólico podendo levar ao suicídio (Spitzer et al., 1978; Maj et al., 1994; Schwartzmann & Lafer, 2004).

Na sua expressão clínica, é considerado um transtorno psiquiátrico crônico e grave, de origem obscura e fisiopatologia incerta. O principal fator clínico apresentado é a alternância de depressão, mania ou hipomania de forma isolada ou mista com grande morbidade e mortalidade (Stooll et al., 2000; Souza, 2005; Rosa et al., 2006; Frey et al., 2006).

O episódio hipomaníaco é similar ao episódio da mania, porém mais leve e com menor duração, em média, menos de uma semana (Rocca, 2006). Em alguns casos, a hipomania pode ser confundida com estados de humor normais, como a alegria e a irritabilidade, que costumam ser desencadeadas por uma boa ou má notícia, por exemplo. Além do que, essas alterações de humor acabam não sendo percebidas pelas pessoas como um estado hipomaníaco ou um desvio do estado de humor habitual (Moreno et al., 2005).

Segundo Haldane e Frangou (2005), a diferenciação entre a depressão unipolar e a bipolar consiste em um problema, pois o diagnóstico pode ser dificultado, já que muitos sintomas clínicos sugestivos para o espectro bipolar são de difícil detecção. Sendo essa diferenciação muito importante, pois o tratamento da depressão bipolar, em especial, necessita do uso de estabilizadores de humor.

O TB pode ser caracterizado como tipo 1 ou TB tipo 2, o que pode dificultar ainda mais o tratamento. Durante as inúmeras recorrências das fases alternantes ou cíclicas, aproximadamente 1/3 dos pacientes também desenvolve estado misto, incluindo sintomas depressivos e maníacos simultâneos. O TB é classicamente descrito como transtorno afetivo psicótico com episódios maníacos e depressivos maiores, classificados em sua magnitude como TB tipo 1 (Akiskal, 1992; Benazzi, 2000a; Benazzi, 2000b; Mantere, 2004). Outros estudos clínicos recentes demonstraram a existência de um novo espectro de estados depressivos ambulatoriais que alteram com períodos mais moderados e curtos de um estado de hipomania em vez de mania completa, o qual nem sempre é fácil de ser diferenciado do transtorno depressivo maior (unipolar), e neste caso o transtorno é classificado como TB tipo 2 (Benazzi, 2000a, Benazzi, 2000b; Muller-Oerlinghausen, 2002; Mantere, 2004; Bonetto, 2006).

Embora o TB ainda seja mal compreendido, alguns indícios apontam para o envolvimento genético. Ou seja, uma pessoa portadora do TB tem de 5 a 10% de probabilidade dos filhos apresentarem esta doença, e nos gêmeos homozigotos esta taxa é elevada para 40 a 70%, enquanto na população mundial é de 0,5 a 1,5% a possibilidade do aparecimento do TB (Graccock & Sklar, 2009).

Outros estudos reportam que o aumento da agressividade e a tendência ao suicídio em pacientes com TB, pode estar intimamente ligado ao déficit na produção da serotonina. Além disso, também representa um papel importante no sono, apetite, ritmo circadiano e na cognição (Shiah et al., 2000; Caspi & Moffitt, 2006; Graccock & Sklar, 2009). Quanto à noradrenalina, estudos demonstram que uma menor sensibilidade dos receptores noradrenérgicos ocasiona o estado de depressão, já o aumento pode resultar em mania. A disfunção no sistema gabaérgico resulta numa

tendência aos estados maníacos e depressivos, onde pacientes bipolares tem os níveis plasmáticos do ácido γ -aminobutírico (GABA) diminuídos (Ashton & Young, 2003; Balakrishnan, 2003). As alterações do sistema glutamatérgico também estão relacionadas ao TB, e podem ocasionar a disfunção mitocondrial pelo excesso de cálcio (Ca^{2+}), o qual desempenha funções celulares que afetam a neuroplasticidade, distúrbio este que pode desencadear a fisiopatologia do TB e precisa ser mais bem estudado na tentativa de obtenção de uma melhora dos sintomas da doença (Kapczinski et al., 2004).

A neurobiologia desse transtorno ainda continua obscura, estudos *pós mortem* sugerem uma redução significativa das células gliais no córtex pré-frontal e sistema límbico e de neurônios no córtex pré-frontal e hipocampo de pacientes com TB (Kapczinski et al., 2004). Com o uso de ressonância magnética funcional têm se examinado as áreas cerebrais que ficam ativas em vários estágios do TB, entre eles: depressão, hipomania e mania, por meio de paradigmas de ativação emocional utilizando estímulos com valência afetiva ou neutra (Stoll et al., 2000).

Os pacientes com TB têm ativação elevada em regiões subcorticais (tálamo, hipotálamo, amígdala) e porções mediais do globo pálido. Kato e Kato (2000), relatam que há alterações significativas do volume cerebral, sugerindo atrofia ou perda neuronal importante, pelo menos em parte dos indivíduos com o TB.

Brambina e colaboradores (2003), em seus estudos, identificaram regiões alteradas no córtex pré-frontal e regiões límbicas na ressonância magnética, as mesmas apresentavam diminuição no tamanho com prejuízo funcional, ocorrendo também a diminuição do pH, fosfocreatina e adenosina trifosfato (ATP) aumentando assim os níveis de lactato nestas regiões, embora estes dados especificamente não

implicavam diretamente na mitocôndria, eles sugerem desequilíbrio energético nestas regiões do cérebro (Brambina et al., 2003).

Algumas teorias atuais relacionam o possível envolvimento de neurotrofinas, particularmente o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e fator de crescimento neural com a fisiopatologia do TB (Shaltiel et al., 2008, Frey 2006, Berk et al., 2009). Embora a alteração destes sistemas e a forte contribuição dos fatores genéticos estejam estabelecidas, não se tem ainda nenhuma mutação genética explicável nos sistemas monoaminérgicos (Alcântara, 2003).

O tratamento do TB apresenta maior erro ao ser caracterizado por crises isoladas de mania, depressão ou mistas. O foco deve estar atento a ciclagem e proporções dos episódios. O desfecho clínico agrava quanto maior for o número de episódios, sugerindo que, quanto mais precoce for à intervenção clínica, melhor será o prognóstico (Garcia- Lopes, 2001).

A terapia do TB engloba três fases distintas, a fase aguda, a continuação do tratamento e a manutenção (Souza, 2005), porém os principais objetivos do tratamento são a diminuição de sintomas maníacos agudos, a diminuição da frequência dos episódios, a redução da oscilação de humor e a prevenção das conseqüências psicossociais causadas pelo TB (Rosa et al., 2006).

Na fase aguda, em especial, o tratamento tem como objetivo controlar sinais e sintomas de maneira rápida e segura, restabelecendo assim o funcionamento social e psicológico do indivíduo. Tratar, dessa maneira, a mania sem causar depressão e tratar esta sem causar mania (Moreno & Moreno 2005). Na fase de continuação o tratamento visa reduzir a possibilidade de recaída, na fase de manutenção o tratamento deve ser amplo, considerando os aspectos biológicos, psicológicos e sociais com o objetivo de prevenir riscos para o próprio paciente e para outros,

mantendo o paciente em remissão dos sintomas. O surgimento de sintomas na fase de continuação é chamado de recaída, sendo que, se ocorre na fase de manutenção é caracterizado como recorrência (Souza, 2005).

Dessa maneira, o tratamento do TB constitui um grande desafio, já que diversas questões devem ser levadas em consideração, desde a resposta terapêutica esperada, a característica individual da doença e seus desencadeantes, entre outros (Del Porto & Versiani, 2005). Além disso, Moreno e colaboradores (2005) enfatizam que o tratamento do TB também constitui, além de um desafio, um problema, pois o uso de medicamentos antidepressivos pode induzir ciclagem maníaca, recomendando-se assim, a utilização de estabilizadores de humor como tratamento, dentre eles destaca-se o lítio, valproato, lamotrigina, e carbamazepina (Bowden, 2003; Bielecka & Obuchowicz, 2008).

2. MODELOS ANIMAIS DE MANIA

O TB é uma psicopatologia difícil de estudar em modelos animais, visto que não é simples desenvolver um modelo animal de um transtorno caracterizado por períodos de depressão e mania, que se repetem espontaneamente de forma cíclica.

Convém destacar que, de maneira geral, os modelos animais usados para estudar patologias humanas devem atingir, ao menos, três critérios, que são: validade aparente, validade preditiva e validade de construto. A validade aparente baseia-se nas semelhanças entre os sintomas observados em humanos que sofrem de determinada patologia e o fenótipo dos animais submetidos ao modelo em questão. A validade de construto é contemplada quando o modelo animal reproduz as bases biológicas e os fatores desencadeadores da patologia em humanos. A

validade preditiva refere-se à capacidade de fármacos usados no tratamento da patologia em humanos alterar de modo significativo o fenótipo dos animais (Ellenbroek et al, 1990; Einart et al., 2003).

Atualmente, os modelos animais disponíveis para o estudo do TB tendem a focalizar apenas um dos pólos do transtorno, mania ou depressão, enquanto que um número ainda limitado de modelos emprega outros exemplos de comportamentos oscilatórios que não necessariamente se assemelham aos sintomas do TB (Ellenbroek et al, 1990).

2.1. MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO POR OUABAÍNA

A ouabaína, um glicosídeo cardiotônico, é uma inibidora específica da Na^+, K^+ -ATPase e liga-se na enzima na etapa em que ela está fosforilada, impedindo a desfosforilação. A administração de baixas doses de ouabaína provoca morte neuronal “in vivo”, o que sugere a importância da enzima para o funcionamento normal do cérebro (Lees & Leong, 1995; El-Mallakh & Karippot, 2006).

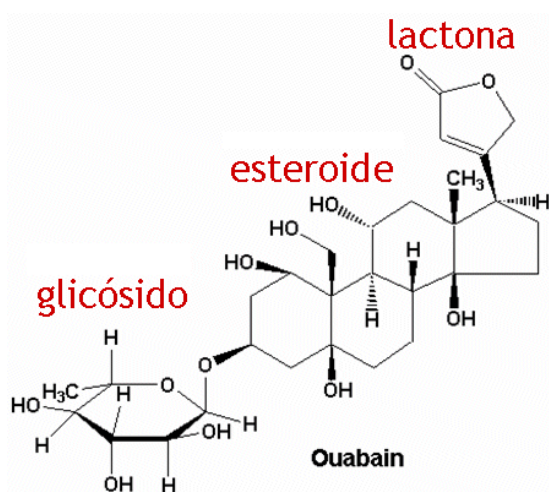


Figura 1: Estrutura Química da Ouabaína. Fonte: Mathews et al., 2000.

A Na^+, K^+ -ATPase é uma proteína integral de membrana e é responsável pela translocação de sódio e potássio contra seus gradientes de concentração através da membrana celular. Desta forma, essa enzima desempenha um papel fundamental para o funcionamento normal do cérebro, sendo responsável pela manutenção de gradientes iônicos necessários para a propagação do impulso nervoso, além da regulação do volume celular e do pH intracelular (Matsumoto et al., 2006).

O modelo da administração de ouabaína para TB reproduz uma anormalidade biológica bastante comum na mania, a diminuição na atividade da Na^+, K^+ -ATPase. Alguns estudos mostraram uma diminuição na atividade da Na^+, K^+ -ATPase em eritrócitos de pacientes com TB. Apesar de não se saber exatamente a causa, acredita-se que a diminuição da enzima nos eritrócitos pode refletir uma diminuição na atividade da mesma enzima no cérebro desses pacientes, e que isso tenha uma forte relação com a fisiopatologia do TB (Shaltie, 2008).

Além disso, a administração de baixas doses de ouabaína no ventrículo cerebral induz hiperatividade, que é prevenida por lítio, carbamazepina e também fármacos antipsicóticos, como a olanzapina e haloperidol. Desta forma, este modelo engloba os três critérios básicos necessários para sua validação, visto que apresenta hiperlocomoção (validade aparente), inibição da Na^+, K^+ -ATPase (validade de construto) e fármacos estabilizadores do humor revertem a alteração comportamental (validade preditiva) (Li et al., 1997; El-Mallakh et al., 2003; Hennion et al., 2003).

3. METABOLISMO ENERGÉTICO CEREBRAL

O ATP é o principal combustível da célula na maioria dos processos que

necessitam de energia. A energia é liberada pela hidrólise de ATP e serve para impulsionar uma série de reações (Nelson & Cox, 2007). O cérebro desenvolve uma intensa atividade metabólica, porém possui uma pequena reserva energética em relação ao grande consumo de glicose, existindo assim uma necessidade contínua de substratos energéticos (Dickinson, 1996).

Estudos mostram que a disfunção mitocondrial resulta de um mau funcionamento da cascata bioquímica sugerindo ser um importante fator na patogênese de muitas doenças psiquiátricas, tais como TB (Fattal et al., 2006; Horn & Barrientos, 2008; Rezin et al., 2008). Além disso, uma anormalidade no metabolismo energético pode desencadear lesão e morte celular (Heales et al., 1999; Blass, 2001; Calabrese et al., 2001; Schurr, 2002).

3.1. GLICÓLISE

A energia necessária para realizar funções vitais, tais como, transporte ativo de íons e moléculas, síntese de macromoléculas e contração muscular é obtida com a oxidação de substâncias pela respiração celular. A glicose é a principal fonte de energia utilizada pela maioria das células e ocupa uma posição central no metabolismo. Ela chega ao cérebro pela circulação sanguínea e atravessa a barreira hematoencefálica com auxílio de transportadores. Ao entrar na célula, a glicose pode ser metabolizada em diferentes rotas, no entanto a principal via de degradação da glicose é a glicólise. Esta via é composta por uma sequência de 10 reações enzimáticas, cuja função no metabolismo energético é fornecer parte da energia utilizada pelos organismos. Este processo ocorre no citoplasma e tem como produto final o piruvato (Clark et al., 1993; Nelson & Cox, 2007; Berg et al., 2008).

Em condições aeróbicas, o piruvato é transportado para dentro da mitocôndria e sofre uma descarboxilação oxidativa, formando a acetil coenzima A (acetil CoA) através da ação enzimática da piruvato desidrogenase (Nelson & Cox, 2007; Berg et al., 2008). A partir disso, a acetil-CoA entra no ciclo de Krebs que por sua vez é a via final comum para a oxidação das moléculas alimentares (Berg, 2004).

3.2. CICLO DE KREBS

O ciclo de Krebs (Figura 2), também conhecido como, ciclo do ácido cítrico ou tricarboxílico, ocorre nas mitocôndrias, compreende a completa oxidação do acetil-CoA a CO_2 , através de uma série de reações composta por oito passos, onde cada um é catalisado por uma enzima diferente (Nelson & Cox, 2007; Berg et al., 2008). O ciclo de Krebs começa e termina com oxaloacetato, e produz duas moléculas de CO_2 , três de nicotinamida adenina dinucleotídio (NADH), uma de flavina adenina dinucleotídio (FADH_2) e energia. Contudo, durante todo o ciclo não ocorre perda de água, logo o ciclo tem que estar acoplado à cadeia respiratória, por ela ser capaz de produzir água usando NADH e FADH_2 gerados no ciclo de Krebs (Voet et al., 2002).

O ciclo de Krebs começa com a condensação de acetil CoA (C_2) com oxaloacetato de quatro carbonos (C_4) formando citrato (C_6). Essa reação é catalisada pela citrato sintase e envolve a hidrólise da ligação tioéster. Prosseguindo esta via cíclica, o citrato é desidratado formando a aconitato que será hidratado pela aconitase formando isocitrato (C_6). Por meio da isocitrato desidrogenase o isocitrato é descarboxilado, formando o α -cetoglutarato (C_5). Esta reação gera a formação de NADH e CO_2 .

O α -cetoglutarato passa por descarboxilação oxidativa gerando succinil- CoA

(C₄) através da α -cetoglutarato desidrogenase, formando NADH e CO₂. O succinil-CoA é convertido em succinato pela succinil-CoA sintase. Por sua vez, o succinato é oxidado, pela succinato desidrogenase, formando fumarato. Nesta reação são produzidos o FADH₂ e os elétrons transportados são direcionados para a quinona da cadeia respiratória. Em seqüência o fumarato é hidratado pela fumarase formando o malato. O malato que é oxidado pela malato desidrogenase forma o oxaloacetado, gerando outra molécula de NADH. Dessa maneira, o oxaloacetato está pronto para reagir com mais uma molécula de acetil-CoA e iniciar novamente o ciclo de Krebs (Murray et al., 2002; Berg, 2004, Nelson & Cox, 2007). O NADH e FADH₂ produzidos no ciclo de Krebs são carrear elétrons até à cadeia respiratória para a produção de ATP na fosforilação oxidativa (Marks et al., 1996; Strye et al., 2004 Nelson & Cox, 2007).

A enzima citrato sintase é quem inicia o Ciclo de Krebs e catalisa a reação de condensação e hidrólise, onde o oxaloacetato se condensa com acetil-CoA para formar citril Coa, que então é hidrolisado a citrato e CoA (Berg, 2004; Campbell, 2005). Esta enzima é inibida por quantidades elevadas de ATP, acetil-CoA e NADH, sendo que esta regulação assegura que o ciclo de Krebs não oxide o excesso de acetil-CoA quando as concentrações de ATP nas células são elevadas (Shepherd, 1969). Um dos pontos de controle é a conversão de piruvato a acetil-CoA pela enzima piruvato desidrogenase, inibida por ATP, acetil-CoA e NADH (Williamson & Cooper, 1980).

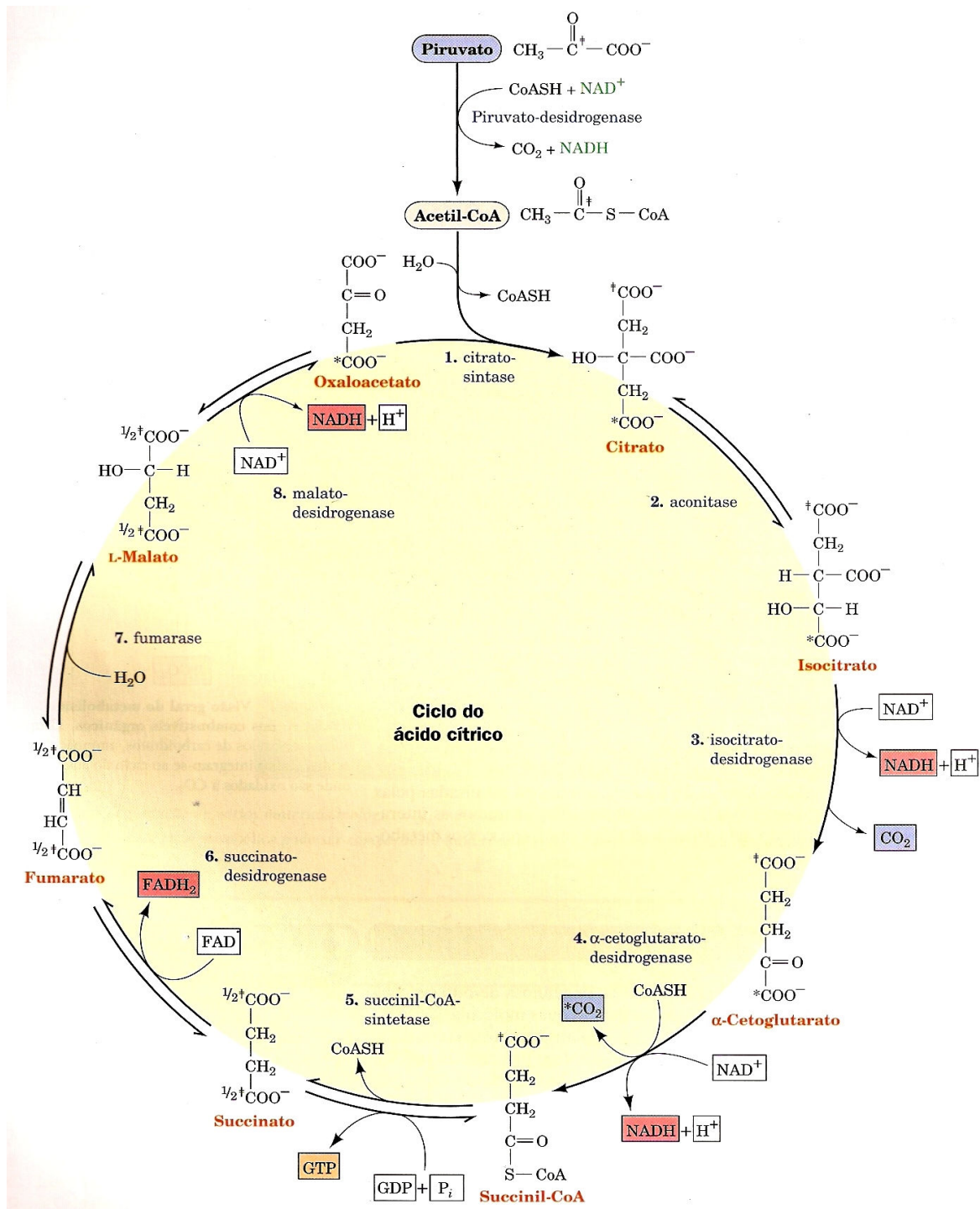


Figura 2. Representação do Ciclo de Krebs
Fonte: Nelson & Cox, 2007.

3.3. CADEIA RESPIRATÓRIA MITOCONDRIAL

A cadeia respiratória é formada por complexos protéicos, onde ocorre a transferência de elétrons doados pelo NADH e FADH_2 . A transferência de elétrons pela cadeia respiratória mitocondrial leva ao bombeamento de prótons da matriz mitocondrial para o espaço intermembranas. O gradiente de prótons é usado para impulsionar a síntese de ATP (Erecinska & Dagani, 1990; Heales et al., 1999; Wallace, 1999; Nelson & Cox, 2007).

A cadeia respiratória é composta por quatro complexos enzimáticos:

- Complexo I ou NADH ubiquinona oxirredutase: realiza a transferência de elétrons do NADH para a ubiquinona, formando ubiquinol. Essa reação faz com que dois prótons sejam bombeados para o espaço intermembrana;
- Complexo II ou Succinato - ubiquinona oxirredutase: é formado pela enzima succinato desidrogenase e três subunidades hidrofóbicas. Esse complexo participa do ciclo de Krebs e transfere elétrons do succinato para a ubiquinona e também forma ubiquinol.
- Complexo III ou citocromo c oxirredutase: transfere elétrons do ubiquinol para o citocromo c, reação que serve para o bombeamento de mais quatro prótons.
- Complexo IV ou citocromo c oxidase: transfere elétrons do citocromo c para o oxigênio, formando água. Nessa etapa os últimos dois prótons são bombeados (Voet et al., 2002; Wallace, 1999).

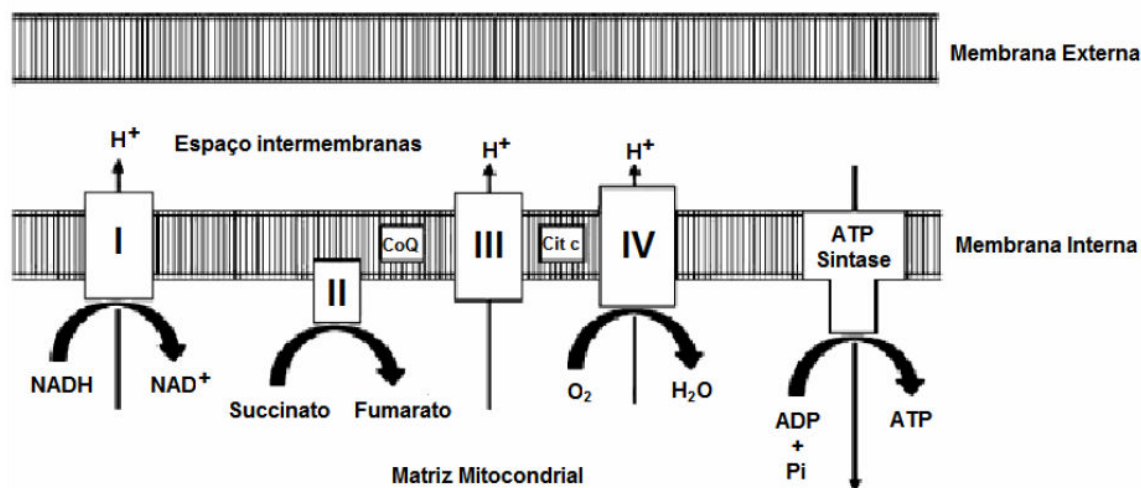


Figura 3. Cadeia respiratória mitocondrial e fosforilação oxidativa
Fonte: Rezin et al.(2009).

A operação da cadeia de transporte de elétrons que leva a um bombeamento de prótons através da membrana interna da mitocôndria cria um gradiente de prótons, chamado de acoplamento quimiosmótico (Madrigal et al., 2001; Fattal et al., 2006; Boekema & Braun, 2007; Devlin, 2008).

O acoplamento quimiosmótico baseia-se na diferença da concentração de prótons entre o espaço intermembranas e a matriz mitocondrial. Durante o processo de transporte de elétrons, tais proteínas obtêm os prótons da matriz e quando são reoxidadas elas liberam os prótons dentro do espaço intermembranas, originando assim o gradiente de prótons. A produção de ATP ocorre quando esses prótons migram de volta para o interior da matriz mitocondrial através do canal iônico presente na ATP sintase. No acoplamento quimiosmótico existe uma conexão direta entre o gradiente de prótons e a reação de fosforilação, todavia o desacoplamento da oxidação e da fosforilação acontece quando há uma diminuição na diferença de prótons entre os dois lados da membrana mitocondrial interna, portanto com a volta dos prótons à matriz ocorre fosforilação do ADP formando assim ATP (Heales et al.,

1999; Wallace, 1999; Voet et al., 2002; Nelson & Cox, 2007).

3.4. CREATINA QUINASE

A creatina quinase está localizada em tecidos com alta demanda energética, tais como o cérebro, músculo esquelético e coração (Wyss et al., 1992).

Esta enzima catalisa a transfosforilação reversível entre ATP e creatina a adenosina difosfato (ADP) e fosfocreatina [$\text{MgATP}^- + \text{creatina} \leftrightarrow (\text{fosfocreatina})^- + \text{MgADP}^- + \text{H}^+$], auxiliando na manutenção dos níveis dos substratos fosforilados (Figura 3).

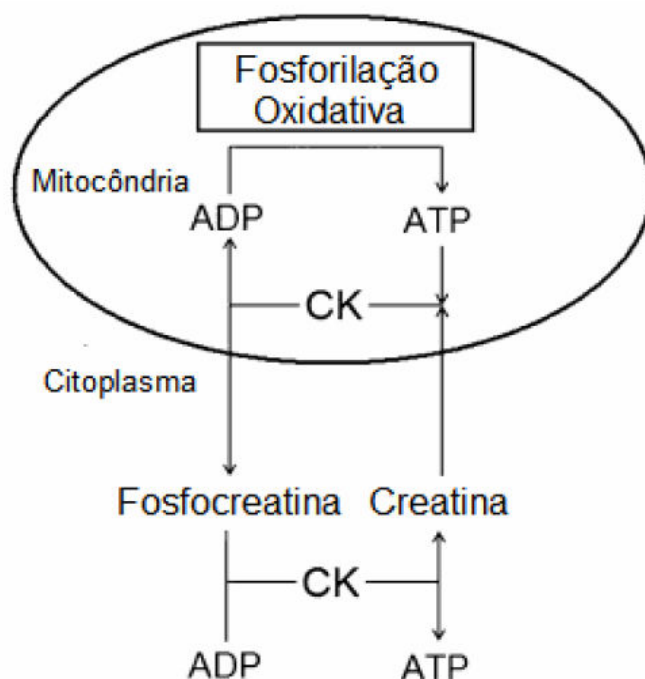


Figura 4: O sistema creatina quinase/fosfocreatina/creatina como sistema de tamponamento dos níveis de ATP celular. Fonte: Rezin et al.(2009)

As isoformas da creatina quinase estão localizadas em sítios de demanda e produção energética. A isoforma citosólica (Ci-CK) consiste de dímeros e é expressa

de uma maneira tecido-específica, isto é, cérebro-específica (BB-CK), músculo esquelético-específica (MM-CQ) e um heterodímero músculo cardíaco-específico (MB-CK) (Schnyder et al., 1991; Wallimann et al., 1992; O’Gorman et al., 1996; Hamman et al., 1995).

Durante a excitação nervosa e neuromuscular ocorre um aumento de dez vezes no giro celular de ATP, e durante essas mudanças rápidas, o sistema creatina/fosfocreatina é fundamental, tanto como um tampão energético, quanto como um sistema de transporte entre os locais de produção e consumo de ATP pelas ATPases, para evitar grandes flutuações nos níveis de ATP/ADP celulares nesses tecidos excitáveis (Bessman & Carpenter, 1985; Schnyder et al., 1991; Wallimann et al., 1992).

Alterações na função da creatina quinase levam ao desenvolvimento de vários estados patológicos envolvendo o cérebro, músculo esquelético e coração, devido à localização das isoformas de creatina quinase ser próximas a sítios onde se dá a geração de energia e transporte de íons através de membranas, e pelo sistema creatina quinase/fosfocreatina desempenhar um papel fundamental na homeostase energética neuromuscular (Hamman et al., 1995; David et al., 1998, Aksenov et al., 1999; Aksenov et al., 2000).

4. DISFUNÇÃO METABÓLICA E TRANSTORNO BIPOLAR

A diminuição no metabolismo energético cerebral parece estar associada a algumas doenças neurodegenerativas, como as doenças de Alzheimer, Parkinson e Huntington, isquemia cerebral e esclerose amiotrófica lateral (Brennan et al., 1985; Beal, 1992; Heals et al., 1999; Blass, 2001; Schurr, 2002). Acredita-se que a diminuição do metabolismo energético cerebral e da creatina quinase estejam envolvida na patogênese de danos neurológicos do TB (Beal, 1992). Neste sentido, estudos desenvolvidos em nosso laboratório descreveram um modelo animal de mania induzido por anfetamina, no qual verificou-se a inibição da atividade da creatina quinase no hipocampo, estriado e córtex, além de uma inibição significativa da atividade da citrato sintase no hipocampo destes animais (Côrrea et al., 2007; Streck et al., 2008).

Estudos de Deicken e colaboradores (2001) e Bertolino e colaboradores (2003), sobre metabolismo energético, descreveram que a diminuição na produção de ATP leva a um funcionamento deficitário da cadeia respiratória, podendo levar a morte celular (Ankarcrona et al., 1995; Heales et al., 1999; Deicken et al., 2001; Bertolino et al., 2003). Conseqüentemente a redução de energia no cérebro pode comprometer a síntese de acetilcolina, glutamato, aspartato e GABA, levando ao dano neuronal (Di Donato, 2000).

Acredita-se que o metabolismo energético cerebral alterado acompanhado de disfunção mitocondrial desempenhe um importante papel na fisiopatologia do TB (Kato, 2000). As mitocôndrias atuam como depósitos temporários de cálcio, para assim controlar os níveis demasiados deste no citosol. Com uma concentração crítica de cálcio intracelular, as mitocôndrias começam a promover a remoção de

cálcio (Kato, 2000; Lacerda, 2002). Kato (2000), descreve que a elevação dos níveis de cálcio em pacientes bipolares representa um dos achados mais replicados nas pesquisas do TB. Sabe-se, também, que o sistema de fosforilação oxidativa gera radicais livres e que a cadeia de transportes de elétrons é vulnerável aos danos causados pelos mesmos (Navarro & Boveris, 2007). O dano oxidativo induzido pelo estresse oxidativo pode ser causa ou uma consequência da disfunção mitocondrial (Torres et al., 2004; Sun 2006; Boekema & Braun, 2007).

Além disso, estudos *in vivo* de ressonância magnética demonstram a diminuição do ATP, do pH e da fosfocreatina, no lobo frontal e temporal de pacientes com TB (Kato et al., 1993; Dager et al., 2004). O que leva a acreditar que a função monoaminérgica apresenta-se alterada no TB para compensar o pH intracelular reduzido, o que poderia ocasionar os sintomas maníaco-depressivos (Kato, 2000; Dager et al., 2004).

Paralelamente, Konradi e colaboradores (2004), relatam uma diminuição da expressão do gene codificador dos complexos enzimáticos, responsáveis pela fosforilação oxidativa e a redução dos complexos proteicos ocasionando um dano no hipocampo de nove pacientes afetados por TB (Konradi et al., 2004; Sun et al., 2006). Estudos recentes *pos mortem* do hipocampo e no córtex em pacientes com TB, mostraram uma diminuição na expressão gênica dos codificadores para o ácido ribonucléico mensageiro (RNAm) das enzimas da cadeia respiratória mitocondrial, reforçando a queda da energia mitocondrial (Sun et al., 2006). Corroborando Mac Donald e colaboradores (2006), apresentam resultados interessantes em que pacientes com TB apresentam uma diminuição nos níveis de mRNA de creatina quinase, especialmente no hipocampo.

Outros achados demonstram que pacientes com TB, no estado maníaco apresentam diminuição do fluxo sanguíneo cerebral no lobo temporal direito no córtex frontal comparado aos indivíduos do grupo controle (Clark, 1998).

Sendo assim, cresce o interesse por pesquisas em modelos animais de mania sobre as alterações neuroquímicas e comportamentais, para que se possa compreender a fisiopatologia do TB, que se mostra cada vez mais desafiador no mundo atual.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Geral

Avaliar parâmetros do metabolismo energético cerebral em ratos submetidos ao modelo animal de mania induzido por ouabaína.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a atividade da citrato sintase em cérebro de ratos 1 hora e 7 dias após a administração ICV de ouabaína;
- Avaliar a atividade da creatina quinase em cérebro de ratos 1 hora e 7 dias após a administração ICV de ouabaína;
- Avaliar a atividade dos complexos I, II, III e IV da cadeia respiratória mitocondrial em cérebro de ratos 1 hora e 7 dias após a administração ICV de ouabaína.

PARTE II – MÉTODOS E RESULTADOS

ARTIGO I

Evaluation of brain creatine kinase activity in an animal model of mania
induced by ouabain

Tiago P Freitas; Giselli Scaini; Cristiane Corrêa; Patricia M Santos; Gabriela K
Ferreira; Gislaine T Rezin; Morgana Moretti; Samira S Valvassori; João Quevedo;
Emilio L Streck

Artigo publicado no periódico *Journal of Neural Transmission* 2010 117(2): 149-53

ARTIGO II

Mitochondrial respiratory chain activity in an animal model mania
induced by ouabain

Tiago P Freitas; Gislaine T Rezin; Daiane Fraga; Morgana Moretti; Julia S Vieira;
Lara M Gomes; Lislaine S Borges; Samira Valvassori; João Quevedo; Emilio L
Streck

Artigo submetido ao periódico *Acta Neuropsychiatrica*

ARTIGO III

Evaluation of citrate synthase activity in brain of rats submitted to an
animal model of mania induced by ouabain

Tiago P Freitas; Gislaine T Rezin; Cinara L Gonçalves; Gabriela C Jeremias;
Lara M Gomes; Giselli Scaini; Brena P Teodorak; Samira S Valvassori; João
Quevedo; Emilio L Streck

Artigo aceito para publicação no periódico *Molecular and Cellular Biochemistry*

DISCUSSÃO

O TB é uma doença grave, classificada como uma das dez mais incapacitantes no mundo (Lopes & Murray, 1998), associada à morbidade e mortalidade (Osby et al., 2001; Baldessarini & Tondo, 2003; Belmaker 2004; Kupfer 2005). Tem como características a alternância de episódios de mania e depressão (Belmaker, 2004; Kupfer, 2005), apresentando taxa de mortalidade de duas a três vezes maior que na população geral, sendo que um terço dos afetados pelo TB já tentaram suicídio (Muller-Oerlinghausen, 2002), e no tratamento destes pacientes o principal foco de atenção é a prevenção das reincidivas (Goodwin & Jamison, 1990). Porém a dificuldade em investigar o TB reside no fato de que o diagnóstico e o tratamento mudam ao longo do tempo, existindo controvérsias sobre a identificação, quadro clínico e causa da doença. Estudos recentemente têm demonstrado que as mudanças nas vias intracelulares que regulam a transmissão neuronal e plasticidade estão associadas com a fisiopatologia do TB (Manji et al., 2001). Contudo, a escassez de um modelo neurobiológico é uma das atuais limitações no entendimento da neurobiologia do TB (Manji et al., 2001; Riegel et al., 2009). Neste contexto, o desenvolvimento de novos modelos animais de mania tem contribuído para o esclarecimento dos mecanismos fisiopatológicos do TB.

Os modelos animais de mania incluem a administração de psicoestimulantes, como a anfetamina, cocaína, além da privação do sono e estimulação elétrica, tais modelos devem cumprir três critérios: a validade de face, preditiva e a de construto (Manji & Chen, 2002; Einart et al., 2003; Streck et al., 2008).

Os modelos animais de mania utilizados tem como base a indução de anfetamina, um estimulante do Sistema Nervoso Central, que aumentado a liberação

de dopamina da fenda pré sináptica e cumprindo os critérios para validação do modelo, mas devido a dificuldade da liberação e importação da anfetamina, utilizamos neste estudo o modelo de mania com a utilização de ouabaína, um glicosídeo cardiotônico inibidor específico da Na^+, K^+ -ATPase, uma enzima responsável pela manutenção do potencial de membrana através do transporte ativo de íons sódio e potássio no sistema nervoso central. A Na^+, K^+ -ATPase, parece desempenhar um papel importante na patogênese do TB (Christo & Mallakh, 1993, El- Mallakh, 2003, Zugno, 2009), pois encontra-se presente em altas concentrações no cérebro, consumindo cerca de 40-50% do ATP gerado neste tecido (Erecinska e Silver, 1994).

Neste estudo, observamos que uma única injeção intracerebroventricular (ICV) em baixas concentrações (10^{-3} M e 10^{-2} M) induziu a hiperatividade locomotora e reproduziu os três critérios pré-estabelecidos para a validação de um modelo animal de mania (validade de construto, preditiva e de face) (El-Mallakh et al., 2003; Zugno et al., 2009).

No presente trabalho, avaliamos a atividade locomotora de ratos 1 hora e 7 dias após a administração de ouabaína ICV nas concentrações de 10^{-3} M e 10^{-2} M. Foi demonstrado que, a hiperlocomotoção permaneceu até sete dias após a administração de ouabaína, em relação ao grupo controle. Estes resultados estão em concordância com a literatura, que demonstra um efeito estimulante de ouabaína em ratos, imediatamente após a injeção (Decker et al, 2000; El Mallakh et al., 2000; 2006). Ruktanonchai e colaboradores (1998) demonstraram que os animais que receberam única administração ICV de ouabaína 10^{-3} M, mantiveram a hiperlocomotoção 9 dias após a administração (Ruktanonchai et al., 1998).

Reforçando os achados, uma exposição repetida ao mesmo ambiente poderia induzir a uma redução do comportamento exploratório, que pode ser descrito como uma habituação ao espaço (Vianna et al., 2000). No entanto, os animais que receberam a administração ICV de ouabaína apresentaram aumento no número dos *crossings* e *rearings*, indicando a hiperlocomoção, em comparação aos animais controle, mesmo que estes já estivessem familiarizados com a caixa exploratória.

Estas observações reforçam que a administração ICV de ouabaína pode ser um modelo útil para a investigação de aspectos ligados a cronicidade do TB, como as alterações neuroquímicas em longo prazo.

Além do comportamento, este estudo avaliou a atividade da enzima creatina quinase (CK), citrato sintase (CS) e dos complexos I, II, III e IV da cadeia respiratória mitocondrial, pois acreditamos que a alteração da obtenção de energia no metabolismo cerebral acompanhado da disfunção mitocondrial desempenhe um importante papel no entendimento da fisiologia do TB (Hough & Chuang 2000; Kato & Kato 2000; Konradi et al., 2004; Rezin et al., 2009; Streck et al., 2008).

Nesse trabalho, foi estudada a atividade da CK, uma enzima que catalisa a transferência reversível do grupamento N-fosforil da fosfocreatina para o ADP regenerando o ATP, desempenhando um papel fundamental no tamponamento energético (regenerando ATP) e na transferência do ATP dos sítios produtivos para os de consumo, principalmente em células com alta demanda, tais como cérebro, músculo esquelético e cardíaco (Andres et al., 2008). Demonstramos que a atividade da CK foi inibida no cérebro de ratos imediatamente após uma única injeção de ouabaína no estriado, córtex pré-frontal e hipocampo. Além disso, avaliamos a atividade da CK sete dias após a administração de ouabaína, onde não foram observados alterações significativas no estriado e hipocampo. Mas, no entanto, a

inibição desta enzima no córtex pré-frontal permaneceu sete dias após a administração de ouabaína. Estes resultados sugerem que estas áreas cerebrais recuperaram-se da inibição da atividade ouabaína em relação a atividade da CK.

Estudos mostraram que fosfatos de alta energia, como a fosfocreatina e o ATP, estão diminuídos no cérebro de pacientes bipolares (Dager et al., 2004; Kato et al., 1993; 1998; Deicken et al., 1995). Estudos *post mortem* no cérebro de pacientes com TB também apresentaram diminuição dos níveis de mRNA para enzimas da cadeia respiratória mitocondrial (Konradi et al., 2004; Sun et al., 2006) e CK (MacDonald et al., 2006). É verificado que, uma diminuição da atividade da CK pode potencialmente prejudicar a homeostase energética, contribuindo para a lesão cerebral (Adleman et al., 2004; Strakowski et al., 2005).

É bem descrito que as lesões do córtex pré-frontal estão associadas com desinibição social, descontrole de impulsos, de organização, planejamento, memória de trabalho, disfunções de atenção e comportamentos espontâneos (Lou, 1996). A razão para a recuperação da atividade da CK no estriado e hipocampo sete dias após a administração de ouabaína permanece desconhecida.

Além da CK, avaliamos a enzima citrato sintase, responsável pelo início do Ciclo de Krebs catalisando a reação de condensação e hidrólise (Berg, 2004; Campbell, 2005). Esta enzima é inibida por quantidades elevadas de ATP, de acetil-CoA e de NADH quando o fornecimento de energia da célula é alto. Esta regulação garante que o ciclo de Krebs não oxide o excesso de acetil-CoA quando as concentrações de ATP na célula estão elevadas (Shepherd, 1969). Além disso, a CS é utilizada como um marcador quantitativo da enzima para a presença de mitocôndrias intactas (Marco et al., 1977). Ao analisarmos a atividade da citrato sintase após a administração de ouabaína nas doses 10^{-2} M 10^{-3} M, imediatamente após e no

sétimo dia, nossos resultados mostraram que CS foi inibida no córtex pré-frontal. Neste contexto, foi recentemente demonstrado que a atividade da CS também foi inibida em modelo animal de mania induzida pela administração de anfetaminas (Corrêa et al., 2007).

As atividades dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial também foram avaliadas neste estudo. A cadeia respiratória é formada por complexos protéicos, nos quais temos a transferência de elétrons, esta transferência de elétrons pela cadeia respiratória leva ao bombeamento de prótons da matriz mitocondrial para o espaço intermembranas, gerando um gradiente eletroquímico que será usado para impulsionar a síntese de ATP (Erecinska & Dagani, 1990; Heales et al., 1999; Wallace, 1999; Nelson & Cox, 2007).

Ao avaliarmos os complexos I, II, III, IV, uma hora e sete dias após a administração de ouabaína nas concentrações de 10^{-3} e 10^{-2} M., observou-se que as atividades foram aumentadas no cérebro de ratos, imediatamente após a administração de ouabaína, nos complexos I, III e IV e no complexo II apenas no córtex pré-frontal. Estas alterações permaneceram aumentadas após sete dias apenas no complexo II, III e IV do córtex pré-frontal. Segundo Rex e colaboradores (2004), a fosforilação mitocondrial oxidativa é a principal produtora de ATP, que abastece mais de 95% da exigência total de energia nas células. Tem sido sugerido que a redução do Na^+, K^+ -ATPase é secundária à depleção de ATP causados pela supressão da fosforilação oxidativa (Erecinska & Silver, 2001; Rex et al., 2004). Outros estudos sugerem que a hipóxia induzida pela supressão da Na^+, K^+ -ATPase em função de diferentes tipos de células não está necessariamente ligada à privação de ATP (Buck & Hochachka, 1993; Bogdanova et al., 2003; Nilsson & Lutz, 2004; Bogdanova et al., 2005; Jain & Sznajder, 2005).

As razões pelas quais as atividades dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial foram aumentadas neste modelo animal de mania induzido por ouabaína não são conhecidas, no entanto a maioria dos estudos mostrou comprometimento do metabolismo em pacientes bipolares e em modelos animais de mania. Tomando em conjunto os resultados atuais e o fato de que a atividade da creatina quinase está diminuída no cérebro de ratos após administração de ouabaína, podemos especular que a produção de ATP na cadeia respiratória pode ser aumentada devido à inibição da produção de ATP pela creatina quinase / fosfocreatina / creatina sistema. Sendo assim, pacientes com TB apresentam comprometimento do metabolismo podendo limitar os resultados do modelo animal de mania.

Relatos experimentais de lesões do córtex-frontal nos animais produzem hiperatividade e desempenho prejudicado nas atividades laborais (Alexander, 1986). Portanto, é concebível que a disfunção mitocondrial causada pela administração de ouabaína possa levar a lesões importantes em estruturas cerebrais responsável pelo controle locomotor. Embora a fisiopatologia do TB precise ser totalmente compreendida, os estudos demonstram que as mudanças nas vias intracelulares, que regulam a transmissão neuronal, plasticidade e sobrevivência estão associadas com a fisiopatologia do TB (Manji, 2001; Bezchlibnyk, 2002).

Com resultados apresentados no trabalho, obtemos uma diferença nos resultados sobre as enzimas 1 hora e 7 dias após a administração de ouabaína, talvez esta diferença possa estar relacionado com a capacidade do organismo em se adaptar com a inibição provocada pela ouabaína.

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, torna-se mais instigante a realização de novos estudos para a total compreensão do mecanismo energético cerebral nos modelos animais de mania.

5. CONCLUSÕES

1. A administração ICV de ouabaína em ratos ocasionou a hiperlocomoção, mostrando-se um valioso modelo animal para a investigação do TB.
2. Inibição significativa da atividade da CK foi detectado imediatamente após a administração de ouabaína no estriado, córtex pré-frontal e hipocampo, nas concentrações de 10^{-3} e 10^{-2} M.
3. Não houve alterações significativas no estriado e hipocampo da atividade da CK avaliada sete dias após a administração de ouabaína.
4. Após sete dias foi observada uma inibição na atividade da CK no córtex pré-frontal causada pela administração de ouabaína.
5. Um aumento significativo na atividade dos complexos I, III, IV foi observada no córtex pré-frontal, hipocampo e estriado, imediatamente após a administração da ouabaína 10^{-3} e 10^{-2} M.
6. A atividade do complexo II foi aumentada apenas no córtex pré-frontal imediatamente após a administração de ouabaína apenas na concentração 10^{-2} M.
7. As atividades dos complexos II, III, IV na concentração 10^{-2} M, após sete dias, foi aumentado no córtex pré-frontal. Não foi observada alteração significativa na atividade do complexo I.
8. A administração de ouabaína inibiu significativamente a enzima CS no córtex pré-frontal nas concentrações 10^{-3} e 10^{-2} M, mantendo-se alterada após sete dias.
9. Os sintomas apresentados nos ratos, com este modelo de mania, têm proximidade com os sintomas diagnosticados em seres humanos portadores de TB.

REFERÊNCIAS

- ADLEMAN NE; BARNEA-GORALY N; CHANK KD. Review of magnetic resonance imaging and spectroscopy studies in children with bipolar disorder. **Expert Review of Neurotherapeutics** 4: 69-77. 2004.
- AKISKAL HS. The distinctive mixed states of bipolar I, II and III. **Clinics of North America** 22: 517-513.1992.
- AKSENOV M; AKSENOVA MV; BUTTERFIELD A; MARKESBERY WR. Oxidative Modification of Creatine Kinase BB in Alzheimer's Disease Brain. **Journal of Neurochemistry** 74: 2520–2527. 2000.
- AKSENOV M; AKSENOVA MV; PAYNE RM; TROJANOVSKI JQ; SCHMIDT KL; CARNEY JM; BUTTERFIELD DA; MARKESBERY WR. Oxidation of cytosolic proteins and expression of creatine kinase BB in frontal lobes of Neurodegenerative disorders. **Dementia and Geriatric Cognitive Disorders** 10: 158-165. 1999.
- ALCANTARA I. Avanços no diagnóstico do transtorno do humor bipolar. **Revista de Psiquiatria** 25: 22-32. 2003.
- ANKARCRONA M; DYPBUKT J M; BONFOCO E; ZHIVOTOVSKY B; ORRENIUS S; LIPTON A S; NICOTERA P. Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. **Neuron** 15: 961-973.1995.
- ALEXANDER GE; DELONG MR; STRICK PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. **Annual Review of Neuroscience** 9: 357–381. 1986.

- ANDRES RH; DUCRAY AD; SCHLATTNER U; WALLIMANN T; WIDMER HR.
Functions and effects of creatine in the central nervous system. **Brain Research Bulletin** 76: 329–343. 2008.
- ASHTONH; YOUNG AH. GABA-Ergic Drogas: Exit Stage Left, Enter Stage Right. **Journal of Psychopharmacology** 17: 174-178. 2003.
- BALAKRISHNAN V; BECKER M; LOHRKE S; NOTHWANG HG; GURESIR E; FRIAU. Expression and function of chloride transporters during development of inhibitory neurotransmission in the auditory brainstem. **Journal of Neuroscience** 23: 4134-45. 2003.
- BALDESSARINI RJ; TONDO L.; HENNEN J. Effects of lithium treatment and its discontinuation on suicidal behavior in bipolar manic-depressive disorder. **Journal of Clinical Psychiatry** 60: 77-841. 1999.
- BEAL MF. Does impairment of energy metabolism result in excitotoxic neuronal death in neurological illnesses. **Annals of Neurology** 31: 119-130. 1992.
- BELMARKER RH. Bipolar Disorder. **New England Journal Medicine** 351: 476-486. 2004.
- BENAZZI F. Depression with DSM-IV atypical features: A marker for bipolar II disorder. **Europe Archives Psychiatry and Clinical Neuroscience** 250: 53-55. 2000a.
- BENAZZI F. Depressive mixed states: Unipolar ad Bipolar II. **Europe Archives Psychiatry and Clinical Neuroscience**. 250: 249-253. 2000b.
- BERG IA; KOCKELKORN D; BUCKEL W; FUCHS G. A 3-Hydroxypropionate/4-Hydroxybutyrate Autotrophic Carbon Dioxide Assimilation Pathway in Archie. **Science** 318: 1782-1786. 2007.

- BERG JM; TYMOCZKO JL; STRYER L. **Bioquímica** Guanabara Koogan, Rio de Janeiro: p.1059. 2004.
- BERK M; MALHI GS; HALLAM K; GAMA CS, DODD S; ANDREAZZA AC; FREY BN; KAPCZINSKI F. Early intervention in bipolar disorders: Clinical, biochemical and neuroimaging imperatives. **Journal of Affective Disorders** 114: 1-13. 2009.
- BERTOLINO A; FRYE M; CALLICOTT JH; MATTAY VS; RAKOW R; SHELTON-REPELLA J; POST R; WEINBERGER DR. Neuronal pathology in the hippocampal area of patients with bipolar disorder: a study with proton magnetic resonance spectroscopic imaging. **Biological Psychiatry** 53: 906-13. 2003.
- BESSMAN SP; CARPENTER CL. The creatine-creatine phosphate energy shuttle. **Annual Review of Biochemistry** 54: 831– 862. 1985.
- BEZCHLIBNYK Y; YOUNG LT. The neurobiology of bipolar disorder: focus on signal transduction pathways and the regulation of gene expression. **Canadian Journal of Psychiatry** 47: 135–148. 2002.
- BIELECKA AM; OBUCHOWICZ E. Antiapoptotic of lithium and valproate. **Pharmacology Reports** 60: 771-782. 2008.
- BLASS, J.P. Brain metabolism and brain disease: is metabolic deficiency the proximate cause of Alzheimer dementia. **Journal of Neuroscience Research** 66: 851-856. 2001.
- BLUMBERG HP; STERN E; RICKETTS S; MARTINEZ D; DE ASIS J; WHITE T; EPSTEIN J; ISENBERG N; MCBRIDE PA; KEMPERMAN I; EMMERICH S; DHAWAN V; EIDELBERG D; KOCSIS JH; SILBERSWEIG DA. Rostral and orbital prefrontal cortex dysfunction in the manic state of bipolar disorder. **American Journal of Psychiatry** 12: 1986-8. 1999.

- BOGDANOVA A; GRENACHER B; NIKINMAA M; GASSMANN M. Hypoxic responses of Na/K ATPase in trout hepatocyte primary cultures **Journal of Experimental Biology** 208: 1793–1803. 2005.
- BOGDANOVA A; OGUNSHOLA OO; BAUER C; NIKINMAA M; GASSMANN M. Molecular mechanisms of oxygen-induced regulation of Na⁺/K⁺ pump **Journal of Experimental Medicine Biology** 536: 231–238. 2003.
- BOEKEMA J; BRAUN HP. Supramolecular Structure of the Mitochondrial Oxidative Phosphorylation System **Journal of Biological Chemistry** 282: 1-4. 2007.
- BONETTO GG; GARBINI M; VIETA E. Bipolar depression: What are we doing? **Journal of Affective Disorders** 98: 169–171. 2006.
- BOWDEN CL. A placebo-controlled 18-month trial lamotrigine and lithium maintenance treatment in recently mania or hypomanic patients with bipolar I disorder. **Archives of General Psychiatry** 60: 392-400. 2003.
- BRAMBILLA P; HARENSKI K; NICOLETTI M. SASSI RB; MALLINGER AG; FRANK. Investigation of temporallobe structures in bipolar patients **Journal of Psychiatry Research** 37:287-95. 2003.
- BRENNAN WA; BIRD ED; APRILLE JR. Regional mitochondrial respiratory activity in Huntington's disease brain. **Journal of Neurochemistry** 44: 1948-1950. 1985.
- BRUNELLO N; TASCEDDA F. Cellular mechanisms and second messengers: relevance to the psychopharmacology of bipolar disorders. **Internacional Journal of Neuropsychopharmacology** 6: 181-9. 2003.
- BUCK LT; HOCHACHKA PW. Anoxic suppression of Na⁺-K⁺-ATPase and constant membrane potential in hepatocytes: support for channel arrest. **American Journal of Psychiatry** 265: 1020–1025. 1993.

- CALABRESE JR; SHELTON MD; RAPPORT DJ; KUJAWA M; KIMMEL SE; CABAN S. Current research on rapid cycling bipolar disorder and its treatment. **Affect Disorder** 67: 241-55. 2001.
- CAMPBELL MK. **Bioquimica** Art Med. Porto Alegre, p 752. 2005.
- CASPI A; MOFFITT TE. Gene-environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience? **Nature Reviews Neuroscience** 7: 583-590. 2006.
- CORRÊA C; AMBONI G; ASSIS LC; MARTINS MR; KAPCZINSKI F; STRECK EL; QUEVEDO J. Effects of lithium and valproate on hippocampus citrate synthase activity in an animal model of mania. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry** 31: 887-89. 2007.
- CLARK JB. N-acetyl aspartate: a marker for neuronal loss of mitochondrial dysfunction. **Developmental Neuroscience** 20: 271–276.1998.
- DAVID S; SHOEMAKER M; HALEY BE. Abnormal properties of creatine kinase in Alzheimer's disease brain: Correlation of reduced enzyme activity and active site photolabeling with aberrant cytosol-membrane partitioning. **Molecular Brain Research** 54: 276–287. 1998.
- DAGER SR; FRIEDMAN SD; PAROW A; DEMOPULOS C; STOLL AL; LYOO IK; DUNNER DL; RENSHAW PF. Brain metabolic alterations in medication-free patients with bipolar disorder. **Archives of General Psychiatry** 61: 450-458. 2004.
- DECKER S; GRIDER G; COBB M; LI XP; HUFF MO; EL-MALLAKH RS; LEVY RS. Open field is more sensitive than automated activity monitor in documenting ouabain-induced hyperlocomotion in the development of an animal model for bipolar illness. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry** 24: 455-462. 2000.

- DEICKEN RF; PEGUES MP; ANZALONE S; FEIWELL R; SOHER B. Lower concentration of hippocampal N-acetylaspartate in familial bipolar I disorder. **American Journal of Psychiatry** 160: 873-82. 2003.
- DEICKEN RF; WEINER MW; FEIN G. Decreased temporal lobe phosphomonoesters in bipolar disorder **Journal of Affective Disorders** 33: 195-199. 1995.
- DEL PORTO J A; VERSIANI M. Tratamento bipolar: tratando o episódio agudo e planejando a manutenção. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria** 54: 84-88. 2005.
- DEVLIN TM. **Manual de bioquímica: com correlações clínicas**. Edgard Blücher. São Paulo. 2008.
- DI DONATO S. Disorders related to mitochondrial membranes: pathology of the respiratory chain and neurodegeneration. **Journal of Inherited Metabolic Disease** 23: 247-263. 2000.
- DICKINSON CJ. Cerebral oxidative metabolism in hypertension **Clinical Science** 91: 539-550. 1996.
- EINAT H; YUAN P; GOULD TD; LI J; DU J; MANJI HK; CHEN G. The role of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in mood regulation. **Journal of Neuroscience** 23: 7311–7316. 2003.
- EL-MALLAKH RS. The Na⁺K⁺ ATPase hypothesis for manic depression I: General considerations. **Medical Hypotheses** 12: 253-268. 1983.
- EL-MALLAKH RS; DECKER S; MORRIS M; LI XP; HUFF MO; EL-MASRI MA; LEVY RS. Efficacy of olanzapine and haloperidol in an animal model of mania. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry** 30: 1261-1264. 2006.

EL-MALLAKH RS; EL-MASRI MA; O MALLEY HM; LI X-P; DECKER S; LEVY RS.

Intracerebroventricular administration of ouabain as a model of mania in rats.

Bipolar Disorders 5: 362-365. 2003.

EL-MALLAKH RS; KARIPPOT A. Chronic Depression in Bipolar Disorder. **The**

American Journal de Psychiatry 163:1337-1341. 2006.

ELLENBROEK B.; COOLS AR. Animal models with construct validity for

schizophrenia. **Behavioral Pharmacology** 6: 469-490, 1990.

ERECINSKA, M.; DAGANI, F. Relationships between the neuronal sodium/potassium

pump and energy metabolism. **The Journal of General Physiology** 95: 591-

616.1990.

ERECINSKA M; SILVER IA. Ions and energy in mammalian brain. **Progress in**

Neurobiology 43: 37-71. 1994.

FATTAL O; BUDUR K; VAUGHAN AJ; FRANCO K. Review of the literature on major

mental disorders in adult patients with mitochondrial diseases.

Psychosomatics 47:1-7. 2006.

FREITAS TP; SCAINI G; CORRÊA C; SANTOS PM; FERREIRA GK; REZIN GT;

MORETTI M; VALVASSORI SS; QUEVEDO J; STRECK EL. Evaluation of

brain creatine kinase activity in an animal model of mania induced by ouabain.

Journal of Neural Transmission 117: 149-153. 2010.

FREY BN. Neuropathological and neurochemical abnormalities in bipolar disorder.

Revista Brasileira de Psiquiatria 26: 180-188. 2004.

FREY BN; ANDREAZZA AC; CERESER KM; MARTINS MR; VALVASSORI SS;

REÚS GZ; QUEVEDO J; KAPCZINSKI F. Effects of mood stabilizers on

hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. **Life Science** 79: 281-

286. 2006.

- GARCIA-LOPES A. Clinical predictors of long-term outcome of lithium prophylaxis in bipolar disorder. **Actas Españolas de Psiquiatría** 9: 327-332. 2001.
- GOULD TD; MANJI, HK Signaling networks in the pathophysiology and treatment of mood disorders. **Journal of Psychosomatic Research** 53: 687-697. 2002.
- GRADDOCK N; SKLAR P. Successful start to a long journey. **Genetics of bipolar disorder** 23: 99-105. 2009.
- HALDANE M; FRANGOU S. The Maudsley Bipolar Disorder Project: insights into the role of the prefrontal cortex in bipolar disorder I. **Revista de Psiquiatria** 3: 241-250. 2005.
- HAMMAN BL; BITTL JA; JACOBUS WE; ALLEN PD; SPENCER RS; TIAN R; INGWALL JS. Inhibition of creatine kinase reaction decrease the contractile reserve of isolated rat hearts. **The American Journal of Physiology** 269: 1030–1036. 1995.
- HEALES SJ; BOLAÑOS JP; STEWART VC; BROOKES PS; LAND JM; CLARK JB. Nitric oxide, mitochondria and neurological disease. **Biochemical Biophysical Acta**, 1410: 215-228. 1999.
- HENNION P; EL-MARSI MA; O'MALLEY H; EL-MALLAKH RS. Evaluation of neuroprotection by lithium and valproic acid against ouabai-induced cell damage. **Bipolar Disorders** 4: 201-206. 2003.
- HOUGH CJ; CHUANG DM. The mitochondrial hypothesis of bipolar disorder. **Bipolar Disorders** 2: 145–147. 2000.
- HORN D; BARRIENTOS A. Mitochondrial copper metabolism and delivery to cytochrome c oxidase. **Life Science** 60: 421-9. 2008.
- JAIN M; SZNAJDER JI. Effects of hypoxia on the alveolar epithelium. **Proceedings of the American Thoracic Society** 2: 202–205. 2005.

- JUDD LL; AKISKAL S; SCHETTLER PL. The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder . **Archives of General Psychiatry** 59: 530-537. 2002.
- KAPLAN H I; SADOCK B J; G, JACK A. In: **Compêndio de Psiquiatria: Ciências do Comportamento e Psiquiatria Clínica** Porto Alegre: Artes Médicas, p. 1169. 1997.
- KAPCZINSKI F; FREY BN; ZANNATTO V. Physiopathology of bipolar disorders: what has changes in the last 10 years? **Revista Brasileira de Psiquiatria** 3: 17-21. 2004.
- KATO T; INUBUSHI T; KATO N. Magnetic resonance spectroscopy in affective disorders. **Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences** 10: 133–147. 1998.
- KATO T. KATO N. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. **Bipolar Disorders** 2: 180–190. 2000.
- KATO T; TAKAHASHI S; SHIOIRI T; INUBUSHI T. Alterations in brain phosphorous metabolism in bipolar disorder detected by in vivo ³¹P and ⁷Li magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Affective Disorders** 27: 53–59. 1993.
- KESSLER R C; MERIKANGAS K R; WANG P S. Prevalence, comorbidity, and service utilization for mood disorders in the United States at the beginning of the twenty-first century. **Annual Review of Clinical Psychology** 3: 137-158. 2007.
- KHUCHUA ZA; QIN W; BOERO J; CHENG J; PAYNE RM; SAKS VA; STRAUSS AW. Octamer formation and coupling of cardiac sarcomeric mitochondrial creatine kinase are mediated by charged N-terminal residues. **Journal of Biological Chemistry** 273: 22990–22996. 1998.

- KONRADI C, EATON M, MACDONALD ML, WALSH J, BENES FM, HECKERS S. Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. **Archives of General Psychiatry** 61: 300–308. 2004.
- KUPFER DJ. The increasing medical burden in bipolar disorder. **JAMA** 293: 2528–2530. 2003.
- KUPFER DJ. The increasing medical burden in bipolar disorder. **Lancet** 293: 2528–2530. 2005.
- LACERDA ALT; SOARES JC; TOHEN M. The role of atypical antipsychotic agents in the treatment of bipolar disorder: a literature review. **Revista Brasileira de Psiquiatria** 24: 34-43. 2002.
- LARSSON NG; LUFT R. Revolution in mitochondrial medicine. **FEBS Letters** 455: 199-202. 1999.
- LI R; EI-MALLAKH RS; HARRISON LT. CHANGARIS DG; LEVY RS. Lithium prevents ouabain-induced behavioral changes: towards an animal model for maniac depression. **Molecular and Chemical Neuropathology** 31: 65–72. 1997.
- LOPEZ AD; MURRAY. The global burden of disease. **Nature Medicine** 4: 1241-1243. 1998.
- LOU H. Etiology and pathogenesis of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD); significance of prematurity and perinatal hypoxic-haemodynamic encephalopathy. **Acta Paediatrica** 85: 1266–1271. 1996.
- MACDONALD ML; NAYDENOV A; CHU M; MATZILEVICH D; KONRADI C. Decrease in creatine kinase messenger RNA expression in the hippocampus and dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder. **Bipolar Disorders** 8: 255-264. 2006.

MACKINNON DF; PIES R. Affective instability as rapid cycling: theoretical and clinical implications for borderline personality and bipolar spectrum disorders.

International Society for Bipolar Disorders 8: 1-14. 2005.

MANJI HK; DREVETS WC; CHARNEY DS. The cellular neurobiology of depression.

Nature Medline 7: 541–547. 2001.

MANTERE O; SUOMINEN K; AVRILOMMI P; VALTONEN H; LEPPAMAKI S; ISOMETSA, E. Clinical predictors of unrecognized bipolar I and II disorders.

Journal Affect Disorders 91: 42-73. 2006.

MARCO R; PESTAÑA A; SEBASTIAN J; ALBERTO S. Oxaloacetate metabolic crossroads in liver. Enzyme compartmentation and regulation of gluconeogenesis. **Molecular and Cellular Biochemistry** 3: 53–70. 1974.

MATHEWS CK; HOLDE KEV; AHERN KG. **Biochemistry** 3 ed. Prentice Hall 2000.

MATSUMOTO S; SAIKI C; YOSHIDA S; TAKEDA M; KUMAGAI Y. Effect of ouabain on the after hyperpolarization of slowly adapting pulmonary stretch receptors in the rat lung. **Brain Research** 34: 131-139, 2006.

MITCHELL PB; SLADE T; ANDREWS G. Twelve-month prevalence of bipolar spectrum disorder in the National Comorbidity Survey replication. **Psychology Medicine** 34: 777-785. 2004.

MORENO RA; MORENO DH; RATZKE R. Diagnosis, treatment and prevention of mania and hypomania within the bipolar disorder. **Revista de Psiquiatria Clínica** 32: 39-48. 2005.

MULLER-OERLINGHAUSEN B; BERGHOFER A; BAUER M. **Bipolar disorders** 359: 241–247. 2002.

- MURRAY RK ; GRANNER KD; MAYERS AP; RODWELL VW. **Harper: Bioquímica** Atheneu. São Paulo, p. 919. 2002.
- NAVARRO A; BOVERIS A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process. **American Journal Physiology Cell Physiology** 292: 670-686. 2007.
- NELSON DL; COX MM. **Lenninger - Princípios de Bioquímica**. 4 ed. Sarvier, São Paulo, 2007.
- NILSSON GE; LUTZ PL. Anoxia tolerant brains. **Journal Cerebral Blood Flow Metabolism** 24: 475–486. 2004.
- O’GORMAN E; BEUTNER.; WALLIMANN T; BRDICZKA D. Differential effects of creatine depletion on the regulation of enzyme activities and on creatine stimulated mitochondrial respiration in skeletal muscle. **Biochimica et Biophysica Acta** 1276: 161-170. 1996.
- OSBY U; BRANDT L; CORREIA N; EKBOM A; SPAREN P. Excess mortality in bipolar and unipolar disorder in Sweden. **Archives General Psychiatry** 58: 844-850. 2001.
- RIEGEL RE; VALVASSORI SS; ELIAS G; RÉUS GZ; STECKERT AV; SOUZA B; PETRONILHO F; GAVIOLI EC; DAL-PISSOL F; QUEVEDO J. Animal model of mania induced by ouabain: Evidence of oxidative stress in sub mitochondrial particles of the rat brain **Neurochemistry International** 55: 491-495. 2009.
- REZIN GT; AMBONI G; ZUGNO AI; QUEVEDO J; STRECK EL. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. **Neurochemical Research** 34: 1021-1029. 2009.

- REX A; SCHICKERT R; FINK H. Antidepressant-like effect of nicotinamide adenine dinucleotide in the forced swim test in rats. **Pharmacology Biochemistry Behavior** 77: 303-307. 2004.
- RUKTANONCHAI DJ; EL-MALLAKH RS; LI R; LEVY RS. Persistent hyperactivity following a single intracerebroventricular dose of ouabain. **Physiology Behavior** 63: 403-406. 1998.
- ROCCA, CC A; LAFER, B. Alterações neuropsicológicas no transtorno bipolar. **Revista Brasileira de Psiquiatria** 28: 226-237. 2006.
- ROSA AR; MARCO M; FACHEL J.; BARROS, HT. Correlation between drug treatment adherence and lithium treatment attitudes and knowledge by bipolar patients. **Revista de Psiquiatria Clínica** 33: 249-261. 2006.
- SAKS VA; KUZNETSOV AV; KUPRIYANOV VV; MICELI MV; JACOBUS WE. Creatine kinase of rat heart mitochondria. The demonstration of functional coupling to oxidative phosphorylation in an inner membrane matrix preparation. **Journal Biological Chemistry** 260: 7757–7764. 1985.
- SCHLATTNER U; WALLIMANN T. Octamers of mitochondrial creatine kinase isoenzymes differ in stability and membrane binding. **Journal Biological Chemistry** 275: 17314–17320. 2000.
- SCHNYDER T; WINKLER H; GROSS H; EPPENBERGER H M; WALLIMANN T. Crystallization of Mitochondrial Creatine Kinase. **The Journal of Biological Chemistry** 8: 5318:5322.1991.
- SCHURR, A. Energy metabolism, stress hormones and neural recovery from cerebral ischemia/hypoxia. **Neurochemistry International** 41: 1-8. 2002.
- SCHWARTZMANN A; LAFER B. Diagnóstico e tratamentos dos estados mistos. **Revista brasileira de Psiquiatria** 26: 7-11. 2004.

- SHALTIEL G, MAENG S, MALKESMAN O, PEARSON B, SCHLOESSER RJ, TRAGON T, ROGAWSKI M, GASIOR M, LUCKENBAUGH D, CHEN G, MANJI HK. Evidence for the involvement of the kainate receptor subunit GluR6 (GRIK2) in mediating behavioral displays related to behavioral symptoms of mania. **Molecular Psychiatry** 13: 858-872. 2008.
- SHEPHERD, D.; GARLAND, P.B. The kinetic properties of citrate synthase from rat liver mitochondria. **Biochemical Journal** 114: 597-6. 1969.
- SHIAH IS; YATHAM LN. Serotonin in mania and in the mechanism of action of mood stabilizers: a review of clinical studies. **Bipolar Disorders** 2: 77-92. 2000.
- SPITZER RL; ENDICOTT J; ROBINS E. RESEACH Diagnostic Criteria. In: **Biometrics Reseach** 35: 773-782. 1978.
- STRAKOWSKI SM; DELBELLO MP; ADLER CM. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. **Molecular Psychiatry** 10: 105-116. 2005.
- STRECK EL; AMBONI G; SCAINI G; DI-PIETRO PB; REZIN GT; VALVASSORI SS; LUZ G; KAPCZINSKI F; QUEVEDO J. Brain creatine kinase activity in an animal model of mania. **Life Science** 82: 424-429. 2008.
- SOUZA F G M. Bipolar disorder treatment: Euthymia. **Revista de Psiquiatria Clínica** 32: 63-70. 2005.
- STOLL A L; RENSHAW P F; YURGELUN-TODD D A. Neuroimaging in Bipolar Disorder: What Have We Learned? **Biology Psychiatry** 48: 505-517. 2000.
- TORRES RL; TORRES ILS; GAMARO GD; FONTELLA FU; SILVEIRA PP; MOREIRA JSR; LACERDA M; AMORETTI JR; RECH D; DALMAZ C; BELLO AA. Lipid peroxidation and total radical-trapping potential of the lungs of rats

submitted to chronic and sub-chronic stress. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** 37: 185-192. 2004.

SUN X; WANG JF; TSENG M; YOUNG LT. Down regulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. **Journal Psychiatry Neuroscience** 31: 189–196. 2006.

VOET D; VOET JG.; PRATT CW. **Fundamentos de bioquímica**. Porto Alegre: Artmed. p 931. 2002.

VIANNA MR; ALONSO M; VIOLO H; QUEVEDO J; DE-PARIS F; FURMANN M; DE STEIN; MEDINA JH; ISQUIERDO I. Role of hippocampal signaling pathways in long-term memory formation of nassociative learning task in the rat. **Learn Memory** 7: 333-340. 2000.

WALLACE DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. **Life Science** 283: 1482-1487. 1999.

WALLIMANN T; WYSS M; BRDICZKA D; NICOLAY K; EPPENBERGER HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. **Biochemical Journal** 281: 21-40. 1992.

WILLIAMSON, JR; COOPER RH. Regulation of the citric acid cycle in mammalian systems. **FEBS letters** 117: 73-85. 1980.

WYSS M; SMEITIN KJ; WEVERS RA; WALLIMANN T. Mitochondrial creatine kinase: a key enzyme of aerobic energy metabolism. **Biochemical et Biophysica Acta** 1102: 119-166. 1992.

ZUGNO AI; VALVASSORI SS; SCHERER EB; MATTOS C; MATTÉ C; FERREIRA CL; REZIN GT; WYSE AT; QUEVEDO J, STRECK EL. Na⁺, K⁺-ATPase activity in an animal model of mania. **Journal Neural of Transmition** 116: 431-436. 2009.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)