

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE  
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ROGER BITENCOURT VARELA**

**INVESTIGAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DOS EFEITOS DO  
TRATAMENTO COM BUTIRATO DE SÓDIO SOBRE O  
COMPORTAMENTO E NÍVEIS DE NEUROTROFINAS  
EM RATOS SUBMETIDOS A MODELOS ANIMAIS DE  
MANIA OU DEPRESSÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. João Luciano de Quevedo.

Coorientadoras:  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Josiane Budni  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Samira da S. Valvassori

**CRICIÚMA, FEVEREIRO DE 2015**

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

V293i Varela, Roger Bitencourt.

Investigação pré-clínica dos efeitos do tratamento com butirato de sódio sobre o comportamento e níveis de neurotrofinas em ratos submetidos a modelos animais de mania e depressão / Roger Bitencourt Varela ; orientador : João Luciano de Quevedo ; coorientadoras: Josiane Budni, Samira da S. Valvassori. – Criciúma, SC : Ed. do Autor, 2015.  
88 p. : il. ; 21 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2015.

1. Butirato de sódio – Uso terapêutico. 2. Transtorno bipolar - Tratamento. 3. Depressão. 4. Psicose maníaco-depressiva. I. Título.

CDD. 22. ed. 615.1

## **FOLHA INFORMATIVA**

A Dissertação foi elaborada seguindo o estilo Vancouver e será apresentada no formato tradicional.

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Neurociências do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense.



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão

Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)


Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

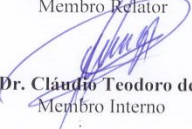
## PARECER

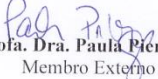
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO apresentada pelo candidato **Roger Bitencourt Varela** sob o título “**Investigação pré-clínica dos efeitos do tratamento com butirato de sódio sobre o comportamento e níveis de neurotrofinas em ratos submetidos a modelos animais de mania ou depressão**”, para obtenção do grau de MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

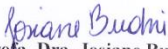
Após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação, com conceito A.


Criciúma, SC, 22 de janeiro de 2015

  
Prof. Dr. Paulo César Lock Silveira  
Membro Relator

  
Prof. Dr. Cláudio Teodoro de Souza  
Membro Interno

  
Profa. Dra. Paula Pierozan  
Membro Externo

  
Profa. Dra. Josiane Budni  
Representante legal do  
Orientador João Luciano de  
Quevedo

  
Prof. Dr. Cláudio Teodoro de Souza  
Coordenador do PPGCS

*“Dedico essa dissertação de  
mestrado aos meus pais,  
Claudionor e Fátima, pela  
dedicação e créditos em  
mim depositados.”*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço primeiramente a minha família. Meus Pais, Claudionor e Fátima, que sempre me aconselham e apoiam em todas as decisões na minha vida, mesmo que para isso, tivessem que ir contra seus próprios desejos. Pessoas fantásticas, nenhuma titulação acadêmica seria grandiosa o bastante para outorgar todos os anos de dedicação e ensinamentos passados a mim e aos meus irmãos. Vocês terão uma parte em tudo o que eu fizer em minha vida, todas minhas conquistas serão suas também. Meus irmãos, Richard e Renan, e minhas cunhadas Renata e Laira por torcerem por mim e estarem ao meu lado em todas as etapas do meu mestrado. Pode parecer pouco, mas vocês sempre me fizeram acreditar mais em mim mesmo.*

*A todos os meus amigos e colegas de trabalho, em especial Wilson, Camila, Cenita, Paula, Tamara, Amanda, Edemilson, Jéssica e Gustavo pela ajuda, não só nesse trabalho, mas durante todos esses anos de laboratório. Vocês são pessoas incríveis, inteligentes e sérias, mas alegres, divertidas e engraçadas quando se cabe. Sem dúvidas deixaram tudo mais fácil e emocionante.*

*Ao meu orientador Prof. Dr. João Quevedo, por ter aceitado me orientar, ter depositado essa confiança em mim e acreditar no meu potencial. Um exemplo de profissional que me espelharei durante toda minha carreira.*

*As minhas coorientadoras, Prof. Dra. Josiane Budni, palavras são poucas para agradecer toda ajuda que me foi dada. Mostrou que é possível ser orientadora-tipo-mãe sem deixar de ser responsável, crítica e uma pesquisadora excelente, meus profundos e sinceros agradecimentos. Prof. Dra. Samira Valvassori, por ter confiado em mim desde minha iniciação científica, ser a maior incentivadora da minha vida acadêmica e, acima de tudo, uma grande amiga. Uma pessoa brilhante, espero conseguir seguir seus passos e ensinamentos. Serei eternamente grato por tudo.*

*Por fim, aos professores do mestrado, ao PPGCS, a UNESC e a todos que direta ou indiretamente ajudaram na minha formação e contribuíram para o meu crescimento, meu muito obrigado!*

*“Ao buscar a vitória não é  
hábil deixar de ultrapassar  
o que todos já sabem.”*

SUN TZU

## RESUMO

Os transtornos neuropsiquiátricos, que incluem distúrbios neurológicos e psiquiátricos, são responsáveis por 13% da carga global de doenças. Dentre eles, a depressão e o transtorno bipolar possuem um número bastante representativo de pacientes. Diversos estudos têm demonstrado que esses dois transtornos são acompanhados de um representativo dano cognitivo, afetando principalmente a memória e causando um prejuízo na qualidade de vida dos pacientes. Apesar da gravidade desses transtornos, ainda existe uma lacuna muito grande no tratamento e na eficácia terapêutica de antidepressivos e estabilizadores de humor, sendo de extrema importância o estudo de novos compostos e novas abordagens terapêuticas. Esses transtornos possuem uma neurobiologia complexa e pouco conhecida, porém algumas vias parecem estar envolvidas na sua fisiopatologia. As neurofinas são proteínas relacionadas à plasticidade, crescimento e sobrevivência neuronal, sendo o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator neurotrófico do nervo (NGF) e fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) os fatores neurotróficos mais importantes e é cada vez mais relatada alterações nos níveis dessas proteínas em pacientes com transtornos do humor. Estudos mostram que o butirato de sódio, um inibidor de histonas deacetilases, é capaz de controlar o comportamento e cognição através da modulação de mecanismos epigenéticos, e por esse motivo seus efeitos antidepressivos e antimaniacos têm sido estudado para sua aplicação como um possível agente terapêutico para os transtornos do humor. Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do tratamento com butirato de sódio em ratos *Wistar* adultos, sobre os parâmetros comportamentais e níveis de BDNF, NGF e GDNF em cérebro de ratos submetidos a modelos animais de mania e depressão. Para isso, dois grupos de animais foram submetidos aos modelos animais de depressão induzido por estresse crônico moderado ou privação materna e tratados com injeções intraperitoneais de butirato de sódio durante sete dias. Após o tratamento, os animais foram submetidos aos testes comportamentais de campo aberto e



nado forçado e o teste de memória de reconhecimento de objetos seguidos pela avaliação de BDNF, NGF e GDNF no hipocampo. Um terceiro grupo de animais foi submetido ao modelo animal de mania induzido por ouabaína e tratado durante sete dias com butirato de sódio. Após o tratamento os animais foram submetidos ao teste do campo aberto seguido pela avaliação de BDNF, NGF e GDNF no hipocampo e córtex pré-frontal. Os animais submetidos ao modelo animal de depressão apresentaram tempo de imobilidade aumentado no teste de nado forçado, assim como prejuízo na memória de curta e longa duração, porém o tratamento com butirato reverteu esses danos. O modelo de mania causou hiperatividade nos ratos e o tratamento com butirato também reverteu esse comportamento. Ambos os modelos, de depressão e mania, reduziram os níveis de neurotrofinas em todas as estruturas cerebrais e o tratamento com butirato foi capaz de reverter total ou parcialmente essa redução. Como o butirato de sódio facilita a transcrição gênica inibindo as histonas deacetilase, pode-se sugerir que os efeitos antimaniacos e antidepressivos do butirato de sódio se devem ao aumento da transcrição e níveis das neurotrofinas no cérebro. Estes resultados ressaltam a importância de mais estudos com histonas deacetilases em modelos animais para melhor elucidar o papel da epigenética na fisiopatologia e tratamento dos transtornos do humor.

**Palavras-chave:** Transtorno Bipolar; Depressão; Butirato de Sódio; Neurotrofinas.

## ABSTRACT

Psychiatric disorders, which include neurologic and psychiatric disorders, are responsible for 13% of global burden of diseases. Among them, major depression and bipolar disorder has a representative number of patients. Several studies have demonstrated that these disorders are accompanied by a relevant cognitive damage, affecting memory mainly, causing a decrease in patients quality of life. Neurotrophins are proteins related to plasticity, growth and neuronal survival, being BDNF, NGF and GDNF the most important neurotrophic factors. It is increasingly reported the alterations on these proteins levels in mood disorders patients, indicating its role on pathophysiology and treatment of these disorders. Despite the gravity of these disorders there is a gap in the treatment and therapeutic efficacy of antidepressants and mood stabilizers, being extremely important studying new molecules therapeutic approach. Studies have shown that sodium butyrate, a histone deacetylase inhibitor, is able to control behavior and cognition via epigenetic mechanisms modulation, therefore, the antidepressant and antimanic effects of this substance have being studied to be applied as a possible therapeutic agent for mood disorders. Given the difficulties to study the human brain *in vivo*, the animal models are relevant tools to study the mood disorders neurobiology. This study aims to evaluate the sodium butyrate treatment effects in behavioral parameters and BDNF, NGF and GDNF levels in brains of Wistar rats submitted to animal models of depression and mania. For this, two animals groups was submitted to the animal models of depression induced by chronic mild stress or maternal deprivation treated with sodium butyrate intraperitoneal injections during seven days. After the treatment, the animals were submitted to the open field and forced swimming tests and object recognition test, followed by the hippocampal BDNF, NGF and GDNF levels evaluation. A third animal group was submitted to the animal model of mania induced by ouabain and treated with sodium butyrate, lithium and valproate during seven days. After the treatment, the animals were submitted to the open

field test followed by the BDNF, NGF and GDNF levels evaluations in the hippocampus and prefrontal cortex. The animals submitted to models of depression showed an increase of immobility time in the forced swimming test, as well as an impairment in the short and long term memory, however, the sodium butyrate treatment reversed these alterations. The animal model of mania induced hiperlocomotion in rats and the treatment with sodium butyrate reversed this behavioral alterations. Both models, depression and mania, reduced the neurotrophins levels in all brain structure evaluated and the treatment with sodium butyrate was able to reverse total or partially this decrease. As sodium butyrate facilitates the gene transcription inhibiting histone deacetylase, it might be suggested that the butyrate antimanic and antidepressants effects are due to the neurotrophins levels increases in the brain, which highlight the importance of more studies with histone deacetylases in animal models to better elucidate the role of epigenetic in the mood disorders pathophysiology and treatment.

**Key-words:** Bipolar Disorder; Major Depression; Sodium Butyrate; Neurotrophins.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Atividade da histona acetiltransferase e histone deacetilase .....	26
<b>Figura 2:</b> Desenho experimental do protocolo de ECM.....	34
<b>Figura 3:</b> Desenho experimental do protocolo de PM.....	35
<b>Figura 4:</b> Desenho experimental do modelo animal de mania induzido por OUA.....	37
<b>Figura 5:</b> Teste do nado forçado.....	38
<b>Figura 6:</b> Teste de reconhecimento de objeto.....	39
<b>Figura 7:</b> Efeitos do buirato de sódio sobre a imobilidade no teste do nado forçado e atividade locomotora nos protocolos de Estresse Crônico Moderado e Privação Materna.....	44
<b>Figura 8:</b> Efeitos do butirato de sódio no teste de reconhecimento de objetos em ratos submetidos aos protocolos de Estresse Crônico Moderado e Privação Materna.....	45
<b>Figura 9:</b> Efeitos do butirato de sódio nos níveis hipocampais de BDNF, NGF e GDNF de ratos submetidos aos protocolos de estresse crônico moderado e privação materna .....	46
<b>Figura 10:</b> Efeitos do Lítio, Valproato e Butirato de sódio sobre a atividade locomotora de animais submetidos o modelo animal de mania induzido por ouabaína.....	47
<b>Figura 11:</b> Efeitos do lítio, valproato e butirato de sódio sobre os níveis de BDNF, NGF e GDNF no hipocampo e pré-frontal de ratos submetidos ao modelo animal de mania induzido por ouabaína .....	48

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

- aCSF** – Líquor Artificial (do inglês *Artificial Cerebrospinal Fluid*)
- AMPc** – Monofosfato Cíclico de Adenosina
- ANOVA** – Análise de Variância (do inglês *Analysis of Variance*)
- BDNF** – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês *Brain-Derived Neurotrophic Factor*)
- BS** – Butirato de Sódio
- CEUA** – Comissão de Ética no Uso de Animais
- CRE** - Elemento de Resposta ao AMPc (do inglês *Cyclic AMP Response Element*)
- CREB** - Proteína Ligante ao Elemento de Resposta do AMPc (do inglês *cAMP Response Element Binding Protein*)
- DPN** – Dia Pós-Natal
- DSM-V** – Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (do inglês *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*)
- ECM** – Estresse Crônico Moderado
- GDNF** – Fator Neurotrófico Derivado da Glia (do inglês *Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor*)
- HAT** – Histona Acetiltransferase
- HDAC** – Histona Deacetilase
- I.m.** – Intramuscular
- I.p.** – Intraperitoneal
- ICV** – Intracerebroventricular
- IR** – Índice de Reconhecimento
- Li** – Lítio
- Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase** – Sódio/Potássio-ATPase
- NCAM** – Molécula de Adesão Celular Neuronal (do inglês *Neural Cell Adhesion Molecule*)
- NF-κB** – Fator Nuclear Kappa B (do inglês *Nuclear Factor Kappa B*)
- NGF** – Fator Neurotrófico do Nervo (do inglês *Nerve Growth Factor*)
- OUA** – Ouabaína
- PM** – Privação Materna

**SBNeC** – Sociedade Brasileira de Neurociências e  
Comportamento

**Sp1** – Proteína de especificidade 1 (do inglês *Specificity Protein 1*)

**STAT-1** - Transdutores de Sinal e Ativadores da Transcrição-1  
(do inglês *Signal Transducer and Activator of Transcription 1*)

**TB**- Transtorno Bipolar

**TrkA** – Receptor de Tropomiosina Quinase A (do inglês  
*Tropomyosin receptor Kinase A*)

**TrkB** – Receptor de Tropomiosina Quinase B (do Inglês  
*Tropomyosin receptor Kinase B*)

**VPA** – Valproato

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
1.1 TRANSTORNOS DE HUMOR .....	16
1.2 NEUROBIOLOGIA DOS TRANSTORNOS DO HUMOR	19
1.2.1 Fatores neurotróficos e transtornos do humor.....	22
1.3 TRATAMENTO DOS TRANSTORNOS DO HUMOR.....	23
1.4 HISTONAS E HISTONAS DEACETILASES .....	24
1.5 INIBIDORES DAS HISTONAS DEACETILASES E TRANSTORNOS DE HUMOR .....	25
1.6 MODELOS ANIMAIS DE TRANSTORNO DO HUMOR.	28
1.7 JUSTIFICATIVA .....	30
<b>2 OBJETIVOS DO TRABALHO.....</b>	<b>31</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>32</b>
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	32
3.2 CONCENTRAÇÃO E DILUIÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS.	32
3.3 DESENHOS EXPERIMENTAIS .....	32
3.3.1 Modelo de depressão induzido por ECM.....	33
3.3.2 Modelo de depressão induzido por PM.....	34
3.3.3 Modelo animal de mania induzido por OUA.....	35
3.4 TESTES COMPORTAMENTAIS .....	36
3.4.1 Teste do Campo aberto .....	36
3.4.2 Teste do Nado forçado .....	37
3.4.3 Teste de reconhecimento de objetos .....	38
3.5 ANÁLISES MOLECULARES.....	40
3.5.1 Preparação dos tecidos.....	40
3.5.2 Avaliação dos níveis cerebrais de BDNF, NGF e GDNF ..	41
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	41
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>43</b>
4.1 ESTRESSE CRÔNICO MODERADO E PRIVAÇÃO MATERNA.....	43
4.1.1 Testes comportamentais.....	43

4.1.2 Testes de memória .....	43
4.1.3 Níveis de neurotrofinas .....	44
4.2 MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO POR OUA.	46
4.2.1 Teste comportamental .....	46
4.2.2 Níveis de neurotrofinas .....	47
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>87</b>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 TRANSTORNOS DE HUMOR

Os transtornos neuropsiquiátricos, que incluem distúrbios neurológicos e psiquiátricos, são responsáveis por 13% da carga global de doenças. Dentre eles, a depressão e o transtorno bipolar (TB) possuem um número bastante representativo de pacientes. Entretanto, apesar de sua gravidade ainda existe uma lacuna muito grande entre o tratamento desses transtornos e a eficácia terapêutica de antidepressivos e estabilizadores de humor (Lund et al., 2012). Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (sigla em inglês DSM-V) (American Psychiatric Association, 2013), os dois principais transtornos do humor são a depressão maior e o TB. Ambos são caracterizados por uma extrema e inapropriada alteração do humor com importante comprometimento social, cognitivo e funcional (Murray e Lopez, 1997; Morgan et al., 2008; Aas et al., 2012).

A depressão é possivelmente o transtorno psiquiátrico com maior prevalência. Estima-se que nos Estados Unidos cerca de 19,2 % da população adulta já apresentou um episódio depressivo durante a vida (Kessler, 2010). Dentre os transtornos psiquiátricos, a depressão é o transtorno que causa maior impacto sobre a qualidade de vida dos pacientes e familiares de acordo com um estudo realizado por Subramaniam et al. (2013). De acordo com o DSM-V (American Psychiatric Association, 2013), o transtorno depressivo maior se caracteriza por um ou mais episódios depressivos, onde o paciente apresenta um período de humor deprimido, perda de interesse ou prazer por atividades antes prazerosas, humor irritável ou triste, podendo apresentar também alterações no apetite, diminuição de energia, sentimento de culpa e em alguns casos ideação e tentativas de suicídio.

Embora a diminuição na capacidade de raciocínio e concentração, ou indecisão sejam os únicos critérios cognitivos para o diagnóstico de depressão presentes no DSM-V, atualmente é bastante reconhecido do fato de grande parte dos pacientes depressivos apresentarem diversos déficits em diferentes funções cognitivas, que podem incluir a velocidade de processamento,

habilidades psicomotoras, atenção, memória e funções executivas, sendo os dois últimos os que mostram comprometimento mais grave (Marazziti et al., 2010; Sierksma et al., 2010). Apesar de esses sintomas serem mais comumente observados durante os episódios de humor deprimido, em alguns casos, o dano cognitivo pode permanecer também durante os períodos de remissão dos sintomas depressivos, comprometendo o funcionamento psicossocial e desempenho profissional do paciente (Fava, 2003; Carvalho et al., 2014).

Diversos estudos têm demonstrado que diferentes tipos de memórias são afetadas em pacientes depressivos (Marazziti et al., 2010). Dumas e Newhouse (2014) mostraram que pacientes com depressão apresentam prejuízo na memória de trabalho acompanhado de uma diminuição da ativação dos lobos lateral frontal e parietal. Outro estudo mostra que os sintomas depressivos parecem ter papel importante nos déficits de memória de trabalho e memória episódica verbal em mulheres expostas a dor (Tomey et al., 2014). Além disso, uma recente revisão sistemática mostrou que memórias ligadas a estímulos emocionais também estão diminuídas em pacientes depressivos (Miskowiak e Carvalho, 2014).

Apesar de não estar diretamente ligado com o estado de humor, o déficit cognitivo parece acompanhar o curso e a intensidade deste transtorno. Estudos comparando pacientes depressivos e controles saudáveis, ambos em idade avançada, demonstraram que os danos ligados a diferentes tipos de memória estão mais acentuados em idosos com depressão, indicando uma correlação entre o dano cognitivo e a progressão deste transtorno (Marazziti et al., 2010; Koenig e Butters, 2014).

Além da depressão, outro transtorno de humor abordado no presente estudo é o TB, um dos mais severos transtornos e que afeta a vida de milhões de pessoas em todo o mundo. É o terceiro transtorno psiquiátrico com maior impacto na qualidade de vida do paciente, ficando atrás da depressão e transtorno obsessivo compulsivo (Subramaniam et al., 2013).

O termo bipolar expressa dois polos de humor ou de estados afetivos que se alternam: a depressão e seu oposto, a

hipomania ou a mania. A mania, dependendo da gravidade, tem manifestações como euforia, energia exagerada, grandiosidade, aceleração e uma sensação de prazer intenso ou um estado altamente irritável e agressivo (Calabrese et al., 2003; American Psychiary Assossiation, 2013). Segundo o manual diagnóstico, os episódios maníacos são caracterizados pelo estado elevado do humor, no qual o paciente encontra-se expansivo ou irritável por um período de, pelo menos, uma semana ou se a hospitalização se fizer necessária. Os episódios hipomaníacos possuem os mesmos critérios dos episódios maníacos, entretanto, com duração mínima de quatro dias. O critério de diagnóstico, de acordo com o DSM-V, requer que esta alteração do humor, tanto na mania quanto na hipomania, seja acompanhada por pelo menos três sintomas adicionais, citados a seguir: auto-estima inflada ou grandiosidade, diminuição da necessidade de sono, taquilalia, fuga de idéias, distratibilidade, agitação psicomotora e comportamentos de risco (American Psychiary Assossiation, 2013).

Assim como na depressão, o comprometimento cognitivo também é uma característica marcante no TB. Muitos estudos têm demonstrado que pacientes bipolares apresentam déficits em diferentes domínios da cognição, dentre eles o controle executivo, motricidade, concentração, tomada de decisão, velocidade de processamento e principalmente as memórias de trabalho, verbal e visual são os mais seriamente afetados (Arts et al., 2008; Torrent et al., 2012; Raust et al., 2014). Existe uma vasta gama de evidências na literatura mostrando a diminuição das funções cognitivas durante os episódios de humor agudo -maníacos, depressivos e mistos- (Martínez-Arán et al., 2000; Bearden et al., 2001; Gallagher et al., 2014), entretanto, estudos mais recentes têm mostrado que esses danos persistem após as fases agudas de humor e também são observados durante a eutímia (Rodríguez et al., 2012; Buoli et al., 2014).

Interessantemente, estudos com pacientes bipolares em estágio inicial mostraram que a neurocognição é afetada desde o início do transtorno (Lera-Miguel et al., 2014) de modo que, um primeiro e único episódio maníaco é capaz de causar déficit cognitivo, principalmente sobre parâmetros de memória (Mackala

et al., 2014). Da mesma forma, estudos com pacientes bipolares em fase avançada do transtorno, mostram que o prejuízo cognitivo é uma característica bastante marcante desse estágio (Lotrich et al., 2014; Rej et al., 2014), sendo que durante essa fase mais tardia, os pacientes apresentam danos à cognição mais severos quando comparados com as fases iniciais deste transtorno (Sajatovic et al., 2013; Weisenbach et al., 2014).

Sendo assim, têm-se sugerido que os déficits cognitivos, que persistem após os episódios agudos de humor e acompanham paralelamente a evolução do quadro dos pacientes, podem ser considerados como traços do transtorno e de sua progressão e não apenas marcadores dos estados de humor (Martínez-Arán et al., 2004; Rodríguez et al., 2012; Buoli et al., 2014)

## 1.2 NEUROBIOLOGIA DOS TRANSTORNOS DO HUMOR

Tanto a depressão quanto o TB apresentam etiologia multifatorial, onde fatores genéticos e ambientais estão envolvidos. Além disso, diferentes sistemas e vias intracelulares podem explicar a fisiopatologia destes transtornos de humor (Fries et al., 2012; Schneider e Prvulovic, 2013).

Uma das primeiras e mais bem estabelecidas teorias sobre a neurobiologia dos transtornos do humor é a hipótese da disfunção monoaminérgica (Haase e Brown, 2014; Jun et al., 2014). Na depressão a hipótese de deficiência monoaminérgica, relacionando os sintomas depressivos com a diminuição da neurotransmissão de monoaminas, principalmente serotonina e noradrenalina, já é bem estabelecida pelos achados neuroquímicos e pelo tratamento bem sucedido com fármacos que melhoram a neurotransmissão monoaminérgica, aumentando a liberação ou diminuindo a recaptação desses neurotransmissores (Bymaster et al., 2003; Mulinari, 2012). A dopamina e o glutamato, dois dos principais neurotransmissores estimulantes no cérebro, parecem ter um papel fundamental na fisiopatologia do TB. Apesar do glutamato não pertencer a família das monoaminas, é bastante descrito sua relação com o sistema dopaminérgico, conferindo-lhe um papel modulatório do sistema monoaminérgico (Jun et al., 2014; de Bartolomeis et al.,

2014). Fármacos que modulam a transmissão desses neurotransmissores apresentam eficácia na manutenção dos sintomas em pacientes, evidenciando ainda mais o papel das monoaminas no TB (Sanacora et al., 2008; Veselinovic et al., 2013; Kirino, 2014; Matosin et al., 2014)

Alem das alterações acima citadas, vale ressaltar o recente enfoque dado as alterações epigenéticas, que incluem diferentes mecanismos que modificam a expressão gênica sem alterar a sequencia do DNA, e vêm sendo alvo de estudos em diversas patologias, incluindo os transtornos do humor (Guintivano e Kaminsky, 2014; Peña et al., 2014). Dentre os principais mecanismos epigenéticos envolvidos nesses transtornos pode-se citar a metilação do DNA (Dulac, 2010; Schwartz e Ast, 2010) e a modificação das histonas (ver item 1.4) (Kouzarides, 2007; Peedicayil, 2014). As alterações epigenéticas são moduladas por estímulos externos e representam o mediador molecular pelo qual o ambiente pode interagir com os genes de pré-disposição, influenciando o fenótipo e agindo como peça chave na etiologia dos transtornos do humor (Guintivano e Kaminsky, 2014). De fato, diversos estímulos ambientais que predisõem os transtornos mentais, também induzem alterações epigenéticas, como infecção e desnutrição materna durante a gestação, idade avançada dos pais, baixo ou alto peso ao nascer, estresse na infância, abuso sexual, traumas, desenvolvimento em ambiente urbano, perda parental, abuso de substancias e eventos adversos durante a vida (McDonald e Murray, 2000; Tamashiro e Moran, 2010; Grissom e Reyes, 2013; Klengel e Binder, 2013; Stankiewicz et al., 2013; Bratlien et al., 2014; Oher et al., 2014; Sorensen et al., 2014). Entretanto, apesar dessas evidencias, estudos que avaliem diretamente as alterações epigenéticas em pacientes com transtornos do humor são extremamente escassos e inconsistentes, sendo os resultados provenientes de estudos com modelos animais a maior fonte de dados sobre o papel da epigenética nesses transtornos (Peña et al., 2014).

Apesar do grande número de estudos objetivando o esclarecimento dos mecanismos fisiopatológicos dos transtornos do humor, ainda são poucas as vias que se sabe de fato ter ligação

direta com a neurobiologia da depressão e do TB (Krishnan e Nestler, 2008; Maletic e Raison, 2014).

O humor, emoção e memória são processos mediados por um conjunto interconectado de estruturas cerebrais centrais e corticais denominado sistema límbico (Patestas and Gartner, 2006). Esse sistema foi descrito por Nieuwenhuys (1996) e dentre as estruturas que o compõem, podemos citar córtex pré-frontal, amígdala, estriado e hipocampo. Dentro desse sistema, o hipocampo desempenha função crucial sobre os processos de aquisição, de consolidação e de recuperação da memória declarativa. O hipocampo possui diversas ligações com regiões corticais, incluindo o córtex pré-frontal. Essas regiões cerebrais juntas são responsáveis pelo processamento das informações e estímulos recebidos para posterior formação de memória pelo hipocampo, formando um subsistema denominado cortico-hipocampal (Eichenbaum, 2000).

Existe uma série de evidências proveniente de estudos neuroanatômicos que apontam o envolvimento das alterações na função e volume das estruturas do sistema límbico com os transtornos do humor (Otten e Meeter, 2015). Pacientes com depressão apresentam volume diminuído do hipocampo (Elcombe et al., 2014; Gillian et al., 2014; Sivakumar et al., 2014), córtex pré-frontal (Fujishima et al., 2014; Rodríguez-Cano et al., 2014; Treadway et al., 2014) e amígdala (Gillian et al., 2014; Ten Doerschate et al., 2014). No cérebro de pacientes bipolares também foram relatados redução no hipocampo (Hallahan et al., 2011; Savitz et al., 2014a) e córtex pré-frontal (Lijffijt et al., 2014; Savitz et al., 2014b). A redução do volume dessas áreas cerebrais pode estar relacionada com a baixa plasticidade neuronal e, conseqüentemente, alta taxa de morte celular, vista nos transtornos do humor (Omata et al., 2013)

Atualmente, diversos laboratórios vêm estudando o papel dos agentes reguladores de plasticidade celular na fisiopatologia dos transtornos de humor (Carlson et al., 2006; Zarate et al., 2006). Os fatores neurotróficos são conhecidos por promover sobrevivência, crescimento neuronal, formação sináptica e plasticidade celular. Portanto, os fatores neurotróficos podem ser

moléculas chave para o entendimento da fisiopatologia dos transtornos do humor (Gomez-Palacio-Schjetnan and Escobar, 2013).

### **1.2.1 Fatores neurotróficos e transtornos do humor**

O fator de crescimento do nervo (sigla do inglês - NGF), fator neurotrófico derivado do cérebro (sigla do inglês - BDNF) e o fator neurotrófico derivado da glia (sigla do inglês - GDNF) são exemplos de fatores neurotróficos (Moris e Vega, 2003; Allen et al., 2013). O primeiro fator neurotrófico a ser descoberto foi o NGF, e tem sido, até hoje, umas das neurotrofinas mais estudadas. O NGF regula a sobrevivência, desenvolvimento e hipertrofismo de populações neuronais específicas no sistema nervoso central e periférico (Levi-Montalcini e Angeletti, 1968; Cirulli e Alleva, 2009). Já é bem descrito na literatura que o BDNF tem um importante papel na sobrevivência, diferenciação e arborização neuronal no sistema nervoso central e periférico durante o desenvolvimento cerebral e na fase adulta (Kang e Schuman, 1995; Korte et al., 1995; McAllister et al., 1999; Sohrabji and Lewis, 2006). O GDNF é o fator neurotrófico menos estudado nos transtornos de humor; é produzido e secretado na região estriatal e desempenha um papel importante na manutenção e sobrevivência de neurônios dopaminérgicos adultos (Lin et al., 1993; Hoffer et al., 1994; Tomac et al., 1995; Granholm et al., 2000; Boger et al., 2006; Pascual et al., 2008).

Recentemente muitos pesquisadores têm estudado o papel do BDNF na fisiopatologia e no tratamento da depressão, sendo, inclusive, considerado como um candidato a biomarcador deste transtorno (Hashimoto, 2014; Numakawa et al., 2014). Diversos estudos demonstram que pacientes depressivos apresentam menores níveis de BDNF no sangue quando comparado com controles saudáveis (Fornaro et al., 2014; Kleimann et al., 2014; Grah et al., 2014; Brunoni et al., 2014). Estudos genéticos também têm demonstrado uma correlação entre diversos tipos de polimorfismos e alterações epigenéticas do gene promotor de BDNF com o transtorno depressivo (Gutiérrez et al., 2014; Kudinova et al., 2014; Choi et al., 2014). Alguns autores tem

relatado baixos níveis de NGF no sangue (Wang et al., 2011; Diniz et al., 2012; Sun et al., 2013; Zhang et al., 2014) além da associação de alguns polimorfismos promotores de GDNF em pacientes com depressão (Kotyuk et al., 2013). Contudo, com exceção de um estudo que mostrou níveis reduzidos de NGF no sangue de pacientes depressivos (Martino et al., 2013), pouco se sabe sobre o seu papel na fisiopatologia da depressão (Jiang e Salton, 2013; de Azevedo-Cardoso et al., 2014).

Considerando que as neurotrofinas, principalmente o BDNF, são importantes mediadores da plasticidade sináptica e controle de apoptose celular, essas moléculas tem sido consideradas chave na fisiopatologia do TB (Rizzo et al., 2014). Em estudos pré-clínicos anteriores, nosso laboratório de pesquisa demonstrou que comportamentos do tipo maníaco são acompanhados por diminuição dos níveis de BDNF e GDNF no córtex pré-frontal e hipocampo de ratos (Frey et al., 2006a, 2006b; Jornada et al., 2010; Cechinel-Recco et al., 2012). Do mesmo modo, muitos estudos clínicos tem demonstrado que pacientes bipolares durante a fase maníaca apresentam níveis de BDNF diminuídos durante os episódios maníacos e depressivos quando comparados com pacientes eufímicos ou controle (Cunha et al., 2006; Fernandes et al., 2011; Gama et al., 2013). Além disso, outro estudo clínico mostrou que indivíduos bipolares, durante a fase maníaca, possuem níveis mais baixos de NGF que pacientes eufímicos ou controles saudáveis, e que essa diminuição de NGF está correlacionada com a severidade dos episódios maníacos (Barbosa et al., 2011a). Seguindo a mesma linha da hipótese do déficit neurotrófico no TB, Barbosa et al. (2011b) promoveram evidencias de que os níveis periféricos de GDNF estão relacionados com os diferentes episódios de humor do TB, reforçando o envolvimento dos fatores neurotróficos na fisiopatologia desse transtorno.

### 1.3 TRATAMENTO DOS TRANSTORNOS DO HUMOR

O tratamento da depressão evoluiu nos últimos anos devido ao perfil favorável em relação aos efeitos colaterais dos antidepressivos de segunda geração (inibidores seletivos da



recaptação de serotonina e noradrenalina, bupropiona e mirtazapina) quando comparada com os fármacos de primeira geração (tricíclicos e inibidores de monoaminoxidase). Atualmente, a fluoxetina é o antidepressivo mais popular devido à quantidade relativamente menor de efeitos adversos. Porém ainda a terapia para a depressão não é satisfatória (Quevedo et al., 2013).

Desde a sua descoberta, cerca de 60 anos atrás, o lítio (Li) ainda é o único fármaco estabilizador do humor utilizado exclusivamente para o TB. Atualmente, além do lítio, alguns anticonvulsivantes como o valproato (VPA) e a carbamazepina, e antipsicóticos atípicos, como olanzapina e quetiapina, tem sido utilizados no tratamento desse transtorno. Porém esses fármacos sozinhos não apresentam total eficácia, sendo a polifarmácia altamente aplicada no tratamento (Kapczinski e Quevedo, 2009), e apesar da gravidade, ainda não existe um fármaco completamente eficaz para o tratamento desse transtorno. O tratamento farmacológico funciona em parte dos pacientes bipolares, porém, muitos deles geralmente possuem altas taxas de reincidência, sintomas que resistem mesmo com o tratamento, diminuição cognitiva e funcional, deficiência psicossocial e diminuição do bem estar, que reduzem a taxa de adesão ao tratamento por parte dos pacientes (Kapczinski e Quevedo, 2009; Geddes e Miklowitz, 2013).

#### 1.4 HISTONAS E HISTONAS DEACETILASES

As histonas são proteínas responsáveis pelo empacotamento, compactação e organização do DNA (Sengupta e Seto, 2004; Choudhary et al., 2009). Foram descobertas por Albrecht Kossel em 1884, e durante muito tempo pensou-se que possuíam apenas função estrutural para o material genético. Porém, quase cem anos depois, Allfrey e Mirsky (1964) fizeram as primeiras descrições de como as alterações na estrutura dessas proteínas poderiam influenciar a expressão gênica sem afetar diretamente a sequência do material genético (Gurard-Levin e Almouzni, 2014).

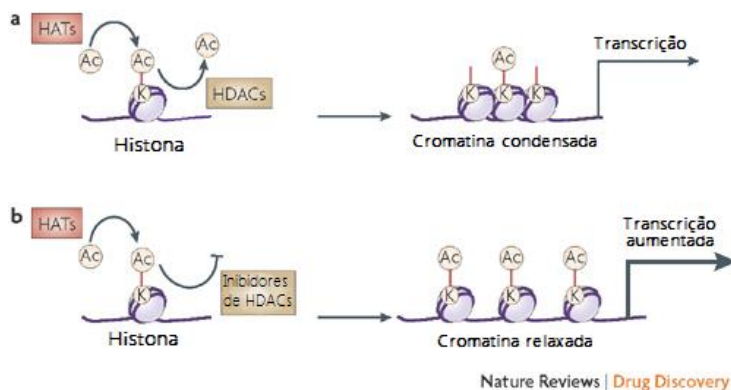
Dentro do núcleo, as histonas se encontram organizadas em octâmeros, cada um formado por um par de cada subtipo de histona (H2A, H2B, H3 e H4). Essa estrutura é denominada de nucleossomo, e possui cerca de 146 pares de bases do DNA enrolado no seu entorno (Marks, 2001). Além dessa estrutura, as histonas possuem prolongamentos proteicos denominados “caudas” que apresentam extremidades amino-terminais e podem se ligar a grupamentos acetil provenientes de um aminoácido  $\epsilon$ -N-acetil lisina, evento esse denominado acetilação de histonas (Kouzarides, 2007; Le et al., 2014).

A acetilação das histonas é uma reação modulada pela enzima histona acetiltransferase (HAT). Quando acetiladas, as histonas alteram sua conformação, deixando a cromatina menos condensada, o que facilita o acesso dos fatores de transcrição aos sítios de ligação do DNA, permitindo a transcrição gênica. Por outro lado, histonas deacetilases (HDAC) são enzimas que catalisam a remoção de grupos acetil das caudas da histona, resultando em uma histona mais condensada e induzindo o silenciamento da expressão gênica (Tsankova et al., 2007; Machado-Vieira et al., 2011) (Figura 1). As HDACs são uma super-família de 18 proteínas formada por 4 principais classes: classe I (HDAC1-3, 8), classe II que é dividida em duas subclasses IIa (HDAC4, 5, 7 e 9) e IIb (HDAC 6 e 10) e classe III (Sirtuin 1-7). É importante ressaltar que a classe I e II são as classes mais estudadas no sistema nervoso central (Machado-Vieira et al., 2011).

## 1.5 INIBIDORES DAS HISTONAS DEACETILASES E TRANSTORNOS DE HUMOR

Compostos com diferentes grupos estruturais podem inibir a atividade das HDACs. Consequentemente, a inibição dessas enzimas induz um aumento nos níveis de acetilação das proteínas histonas promovendo uma maior abertura da cromatina de tal forma que facilita a interação de fatores de transcrição e da RNA polimerase com o DNA para modular a transcrição (Camelo et al., 2005). Dentre os inibidores da HDAC encontra-se o VPA, fármaco anticonvulsivante amplamente utilizado na clínica para o

tratamento do TB (Chiu et al., 2013). O VPA inibe as HDACs de classe I e IIa não afetando a classe IIb (Göttlicher et al., 2001; Gurvich et al., 2004), tendo um enorme potencial para o tratamento de uma variedade de transtornos do sistema nervoso central e doenças neurodegenerativas. No entanto, o seu uso está associado com muitos entraves relativos à toxicidade, teratogenicidade, a idade do paciente, co-morbidades e estabilidade do paciente (Genton et al., 2006; Grosso et al., 2009; Ornoy, 2009; Chateauvieux et al., 2010; Verrotti et al., 2011).



**Figura 1:** Atividade da histona acetiltransferase e histone deacetilase. a: Níveis de acetilação da cauda das histonas (k) são determinados pela reação concorrente de acetilação (Ac) e desacetilação, que são mediadas pela histona acetiltransferase (HATs) e histonas deacetilases (HDACs). Essa acetilação de histonas é vital para estabilizar a conformação estrutural dos complexos da cromatina, e subsequentemente transcrição e expressão gênica. b: através do bloqueio da reação de desacetilação, inibidores de HDAC alteram o equilíbrio do nível de acetilação de histonas, causando um aumento da acetilação e relaxamento na conformação da cromatina aumentando a transcrição. Fonte: Modificado de Kazantsev e Thompson, 2008.

Baseado no mecanismo de ação e efeito terapêutico do VPA, busca-se novos fármacos com estrutura e mecanismo de ação similares e com menos efeitos colaterais. Levando isso em consideração, um candidato a ser extensivamente estudado é o butirato de sódio (BS), um ácido graxo volátil com cadeia de

quatro carbonos de baixo peso molecular, inibidor das HDACs não específico com estrutura similar ao do valproato (Chiu et al., 2013). O primeiro estudo sobre as propriedades do BS foi realizado por Riggs (1977), onde o autor observou que a administração *in vitro* dessa molécula foi capaz de aumentar acetilação de histonas em células HeLa. Entretanto, o mecanismo de ação pelo qual o BS apresentava esses efeitos só foi descrito posteriormente por Boffa et al. (1978), Sealy e Chalkley (1978) e Candido (1978), em uma sequência de estudos *in vitro* e *in vivo*, que comprovaram que os efeitos do BS eram provenientes da supressão da atividade das HDACs. Atualmente o BS ainda não possui nenhuma aplicação clínica prática, porém diversos estudos têm demonstrado seus efeitos em algumas patologias (Falkenberg e Johnstone, 2014). Sua aplicação para o tratamento do câncer foi a primeira estudada e melhor estabelecida (Dong et al., 2014; Li et al., 2015). Estudos recentes indicam que BS, assim como o VPA, controlam a cognição e o comportamento através de mecanismo epigenéticos (Machado-Vieira, 2011), apontando seu potencial para aplicação nos transtornos do humor.

Sabe-se que a estrutura nucleossomal da cromatina permite que o DNA seja empacotado hermeticamente no núcleo da célula por dobramentos organizados. Mecanismos de remodelamento (envolvem os mecanismos epigenéticos) da cromatina asseguram que o DNA permaneça acessível para a maquinaria transcricional. É importante lembrar que estes mecanismos epigenéticos alteram a atividade gênica por modulação da interação proteína-DNA, porém não alteram o código genético (Tsankova et al., 2007). Sendo assim, o controle epigenético de genes por meio da modificação de histonas e a remodelação da cromatina demonstrou afetar profundamente o desenvolvimento, a plasticidade sináptica, o aprendizado, a memória, o uso de drogas, o alcoolismo, o ritmo circadiano, e a eficácia dos antidepressivos (Abel e Zukin, 2008; McClung e Nestler, 2008; Chuang et al., 2009). De fato, um estudo conduzido por Tsankova et al. (2006) mostrou que a deacetilação de histonas hipocampais bloqueou o efeito tipo-antidepressivo da imipramina em camundongos submetidos ao estresse psicossocial.

Corroborando com esta idéia, muitos estudos estão sendo realizados para avaliar o potencial terapêutico dos inibidores das HDACs em transtornos de humor como a depressão e o TB (Machado-Vieira et al., 2011). Entretanto, estudos realizados com valproato mostram que alteração de funções a longo prazo, relacionadas ao DNA podem acarretar importantes alterações gênicas, bem como alterações comportamentais, danos celulares e teratogênese (Khan et al., 2011; Fucic et al., 2010). Por isso a importância de investigar os efeitos da administração crônica de BS e valproato sobre os parâmetros comportamentais e neuroquímicos de ratos *Wistar* submetidos à administração crônica de inibidores de HDAC.

Portanto, o presente estudo foca-se em um novo candidato-alvo à terapia do transtorno bipolar. Este candidato é o BS, um agente inibidor não-específico da classe I e II da HDAC. Ainda existem poucos estudos pré-clínicos que relacionam este fármaco com o comportamento. Um estudo em um modelo de preferência condicionada por local induzido por cocaína em ratos mostrou que BS facilitou a extinção do comportamento de busca pela droga (Malvaez et al., 2010). Além disso, o BS mostrou efeito tipo-antidepressivo, em camundongos machos no teste de suspensão pela cauda, um modelo preditivo para avaliar a atividade tipo-antidepressiva de um composto (Schroeder et al., 2007). Adicionalmente Zhu et al. (2009) mostrou que o tratamento combinado com BS e benzoato de estradiol induziu efeito tipo-antidepressivo no teste da natação forçada em camundongos fêmeas. Um estudo mais recente do nosso grupo mostrou que microinjeções intracerebroventricular de BS na amígdala, estriado e córtex pré-frontal reduziu a hiperatividade induzida por meta-anfetamina, um modelo animal de mania, indicativo de um possível papel do BS no transtorno bipolar (Arent et al., 2011).

## 1.6 MODELOS ANIMAIS DE TRANSTORNO DO HUMOR

O fator mais importante que dificulta o progresso na compreensão da patologia dos transtornos psiquiátricos é a falta de compreensão sobre a neurobiologia do funcionamento cerebral

e as dificuldades éticas e práticas de estudar o cérebro humano *in vivo* (Nestler e Hyman, 2010). Dadas as relativas limitações das atuais tecnologias não invasivas para estudo do cérebro humano, os modelos animais de transtornos psiquiátricos são uma das ferramentas mais importantes para os estudos neurobiológicos (Valvassori et al., 2013).

Um modelo animal, de qualquer doença ou transtorno, deve apresentar três tipos de validades, sendo que quanto mais características do transtorno o modelo apresentar dentro de cada validade, mais fidedigno ao quadro clínico esse modelo será considerado. A primeira, validade de face, corresponde à habilidade do modelo em mimetizar algum sintoma do determinado transtorno observado na clínica; A validade de constructo diz respeito à capacidade do modelo em mimetizar alguma característica fisiopatológica do transtorno; A terceira validade, denominada validade preditiva, considera a habilidade do modelo em responder a agentes terapêuticos clinicamente efetivos (McGonigle e Ruggeri, 2013; McGonigle, 2014).

Tendo em vista que o estresse ambiental tem sido descrito como um dos principais fatores para o desenvolvimento da depressão em pacientes, os principais modelos de depressão são fundamentados em expor animais á diversas situações estressoras durante diferentes fases do desenvolvimento a fim de mimetizar os estímulos ambientais observados na clínica (Bai et al., 2014). Dentre modelos ambientais de depressão, o estresse crônico moderado e a privação materna atendem todas as três validades de um modelo, pois induzem comportamentos do tipo depressivo (como anedonia, afastamento social, ansiedade, desamparo) e alterações neuroendócrinas (Meaney, 2001; Ruedi-Bettschen et al., 2006; Chen et al. 2010; Fortunato et al., 2010; Réus et al., 2011); contudo, essas alterações podem ser revertidas após o tratamento com antidepressivos (Krishnan et al., 2007; Wallace et al., 2009; Nestler e Hyman; 2010).

Atualmente, não existe um modelo bem consolidado na literatura que consiga mimetizar os dois polos do TB no mesmo animal. Assim, modelos animais de mania têm sido bastante

usados para estudar essa condição (Nestler e Hyman, 2010; Young et al., 2011).

Os efeitos dos psicoestimulantes sobre o comportamento têm sido amplamente utilizados como modelos animais de mania por induzir agitação psicomotora, característica amplamente observada na clínica médica durante episódios maníacos em pacientes bipolares (Young et al., 2011). A injeção intracerebroventricular (ICV) de Ouabaína (OUA) é capaz de induzir hiperatividade em ratos através da inibição da  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (El-Mallakh et al., 1995; El-Mallakh and Wyatt, 1995; El-Mallakh et al., 2003), alteração essa observada em pacientes bipolares (Banerjee et al., 2012). Além disso, diversos estudos têm demonstrado que essas alterações são revertidas após o tratamento com Lítio (Lopes-Borges et al., 2015), contemplando as três validades como um bom modelo de mania.

## 1.7 JUSTIFICATIVA

Os estabilizadores do humor e antidepressivos atualmente utilizados na clínica não possuem completa eficácia, apresentando muitos sintomas residuais e efeitos colaterais que reduzem a adesão ao tratamento. Portanto, estudos que buscam a compreensão dos mecanismos de novos fármacos com maior eficácia terapêutica são de extrema importância.

Considerando que: 1) O BS, um inibidor de histonas deacetilases, apresentou efeitos tipo antimaníaco e antidepressivo em estudos pré-clínicos; 2) O déficit na cognição e memória são características marcantes em pacientes transtornos de humor e 3) O envolvimento das neurotrofinas nos processos cognitivos e na fisiopatologia dos transtornos de humor; Avaliar os efeitos desse composto sobre os parâmetros cognitivos e sobre os níveis de fatores neurotróficos em modelos animais é de extrema importância para explorar o potencial terapêutico desse possível agente farmacológico para o tratamento dos transtornos de humor.

## 2 OBJETIVOS DO TRABALHO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do tratamento com butirato de sódio em ratos *Wistar* adultos sobre os parâmetros comportamentais e níveis de BDNF, NGF e GDNF em cérebro de ratos *Wistar* submetidos a modelos animais de mania e depressão.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Avaliar os efeitos do tratamento com butirato de sódio sobre o comportamento do tipo depressivo através do teste de nado forçado em ratos *Wistar* adultos submetidos aos modelos animais de depressão induzido por estresse crônico moderado e privação materna;
- 2- Avaliar os efeitos do tratamento com butirato de sódio sobre parâmetros de memória através do teste de reconhecimento de objetos em ratos *Wistar* adultos submetidos aos modelos animais de depressão induzido por estresse crônico moderado e privação materna;
- 3- Avaliar os efeitos do tratamento com butirato de sódio sobre a atividade locomotora no teste do campo aberto em ratos *Wistar* adultos submetidos ao modelo animal de mania induzido por ouabaína;
- 4- Avaliar os efeitos do tratamento com butirato de sódio sobre os níveis de BDNF, GDNF e NGF no hipocampo de ratos submetidos aos modelos animais de depressão induzido por estresse crônico moderado e privação materna;
- 5- Avaliar os efeitos do tratamento com butirato de sódio, valproato e lítio sobre os níveis de BDNF, GDNF e NGF no hipocampo e córtex pré-frontal de ratos submetidos ao modelo de mania induzido por Ouabaína;



## 3 METODOLOGIA

### 3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Nesse estudo foram utilizados ratos *Wistar* machos neonatos e adultos (250-300g) provenientes do biotério da UNESC. Os animais foram mantidos em um ciclo claro/escuro de 12 horas, com livre acesso a água e comida e o ambiente mantido a temperatura de  $23 \pm 1^\circ \text{C}$ .

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, além das recomendações para o uso de animais da Sociedade Brasileira de Neurociências e comportamento (SBNeC). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ético no Uso de Animais da UNESC (CEUA-UNESC) sob o protocolo de número 102/2012 (ANEXO 1).

### 3.2 CONCENTRAÇÃO E DILUIÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS

A concentração e diluição dos fármacos foram constantes em todos os protocolos do estudo e estão descritos a seguir: Butirato de Sódio (BS) - 600mg/kg intra-peritoneal (i.p.); Valproato (VPA)- 500mg/kg i.p.; Lítio (Li) - 47,5mg/kg i.p.; Ouabaína (OUA) -  $10^{-3}\text{M}$ ; Solução salina (Sal) - 0,09% NaCl i.p.; Cetamina - 80mg/kg intra-muscular (i.m.); Xilasina - 10mg/kg i.m.

### 3.3 DESENHOS EXPERIMENTAIS

A fim de investigar os efeitos do tratamento com BS sobre comportamentos do tipo maníacos e do tipo depressivos e sobre a memória de reconhecimento de objetos foram utilizados no presente estudo três modelos animais, sendo dois modelos animais de depressão induzidos por estresse crônico moderado (ECM) ou privação materna (PM) e um terceiro modelo animal de mania induzido por ouabaína (OUA). Cada modelo e seu respectivo protocolo de tratamento serão descritos a seguir.

### 3.3.1 Modelo de depressão induzido por ECM

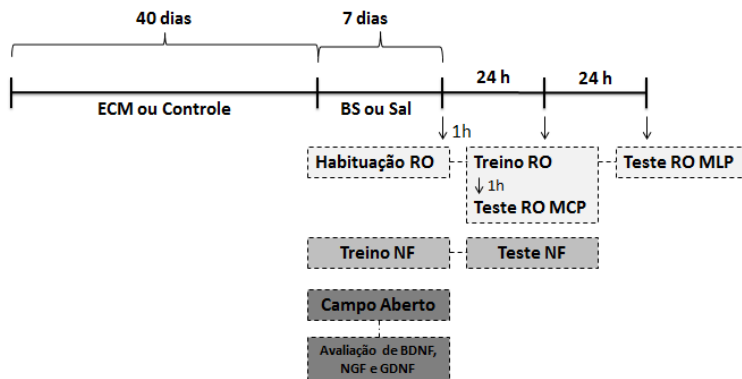
O protocolo de ECM foi realizado de acordo com Gamaro e colaboradores (2003). Os animais estressados foram submetidos à quarenta dias de situações imprevisíveis de estresse leve utilizadas para avaliar o comportamento do tipo depressivo e teste de memória em ratos tratados com SB ou solução salina (Sal). Os tipos de estressores e o tempo de aplicação de cada um estão descritos no quadro abaixo:

<b>Tempo de exposição ao estresse</b>	<b>Estressor</b>
24 horas	Privação de comida
24 horas	Privação de água
1-3 horas	Contenção
1,5-2 horas	Contenção à 4°C
120-210 minutos	Exposição à luz estroboscópica
2-3 dias	isolamento

Os animais foram submetidos aos estímulos estressores em diferentes períodos todos os dias, a fim de minimizar a previsibilidade. A contenção foi realizada acondicionando o animal em tubos de plástico, sem espaço para movimentar-se, permanecendo imobilizado durante todo o processo. A exposição à luz estroboscópica foi conduzida colocando o animal em uma caixa com uma lâmpada intermitente de 40 watts com frequência de 60 flashes por minuto.

BS ou Sal foram injetados intraperitonealmente (i.p.) duas vezes ao dia, durante 7 dias após o término do protocolo de ECM. Todos os tratamentos foram administrados em um volume de 1ml/kg. Para o desenvolvimento desse protocolo, foram empregados 32 animais (n=8), para cada teste experimental, separado e quatro grupos, como descritos a seguir: 1) não estressado+Sal; 2) não estressado+BS; 3)ECM+Sal; 4)ECM+BS. Nesse modelo os animais foram submetidos aos testes de campo aberto, nado forçado e reconhecimento de objetos (descritos mais

abaixo) uma hora após a última administração de cada fármaco. Diferentes animais foram usados para cada teste comportamental (ver figura 2).



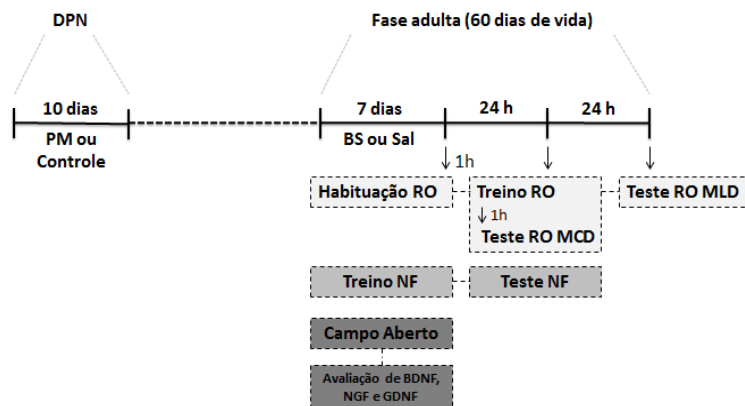
**Figura 2:** Desenho experimental do protocolo de ECM. ECM= Estresse Crônico Moderado; BS= Butirato de Sódio; Sal= Solução salina; RO= Reconhecimento de objetos; MCP= Memória de Curta Duração; MLP= Memória de Longa Duração; NF= Nado Forçado. Fonte: Modificado de Valvassori et al., 2014.

### 3.3.2 Modelo de depressão induzido por PM

A PM foi realizada de acordo com Mello et al. (2009). Nesse protocolo os animais foram privados da presença da mãe por 180 minutos por dia do primeiro dia pós-natal (DPN) até o 10º DPN. O protocolo de privação materna foi realizado retirando a mãe da gaiola. Os filhotes eram mantidos na gaiola (com o odor da mãe). Após cada sessão de PM as mães eram colocadas nas suas respectivas gaiolas novamente. Os animais controle permaneceram em suas gaiolas juntamente com suas mães durante todo o período pós-natal. No 21º DPN, os ratos de ambos os grupos, controle e privado, foram desmamados.

BS e Sal foram injetados i.p. duas vezes ao dia durante sete dias após os animais alcançarem dois meses de idade. Os tratamentos foram administrados num volume de

1mL/kg. Os animais foram randomicamente divididos nos grupos PM e controle antes do início do tratamento. Para o desenvolvimento desse estudo, nós utilizamos 32 animais (n=8), para cada teste comportamental, separados em quatro grupos, como descritos a seguir: 1) não privados+Sal; 2) não privados+BS; 3)PM+Sal; 4)PM+BS. Os animais foram submetidos para o teste de nado forçado, reconhecimento de objetos ou campo aberto uma hora após a administração de cada fármaco. Diferentes animais foram usados para cada teste comportamental (ver figura 3).



**Figura 3:** Desenho experimental do protocolo de PM. DPN= Dia Pós-Natal; PM= Privação Materna; BS= Butirato de Sódio; Sal= Solução Salina; RO= Reconhecimento de Objeto; MCD= Memória de curta duração; MLD= Memória de Longa Duração; NF= Nado Forçado. Fonte: Modificado de Valvassori et al., 2014.

### 3.3.3 Modelo animal de mania induzido por OUA

Nesse modelo os animais são primeiramente submetidos a uma cirurgia estereotáxica para a implantação de uma cânula no ventrículo lateral e posterior administração de OUA. Para isso, os animais foram i.p. anestesiados com cetamina e xilasina. Em um aparelho de cirurgia estereotóxica a pele do crânio dos ratos foi removida e uma cânula guia de calibre 27 e

9mm de comprimento foi implantada a 0.9mm posterior ao bregma, 1.5 mm a direita da linha central e 1.0mm acima do ventrículo lateral (as coordenadas estão de acordo com Paxinos e Watson (2007)). Através de uma perfuração de 2mm de diâmetro feita no osso do crânio, uma cânula foi implantada ventralmente a 2.6mm de profundidade e fixada com cimento acrílico. Após esse procedimento os animais permaneceram em repouso, sem serem manipulados durante três dias.

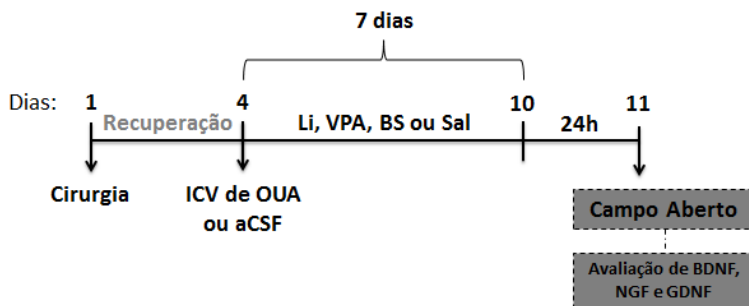
O tratamento farmacológico utilizado nesse protocolo reproduz o tratamento de um episódio agudo de mania e foi realizado de acordo com Jornada et al (2010). Os animais receberam uma única injeção intracerebroventricular (ICV) de 5µl de OUA dissolvida em liquor artificial (aCSF) ou 5µl de aCSF sozinho no quarto dia após a cirurgia. Para isso, uma cânula de calibre 30 foi colocada dentro da cânula guia e conectada através de um tubo de poliéster a uma microseringa. A ponta da cânula de infusão sobressaía 1.0mm da cânula guia, alcançando o ventrículo lateral direito. 24 horas após a injeção de OUA os ratos foram tratados durante 7 dias com injeções i.p. duas vezes ao dia de Sal, Li, VPA ou BS. Para o desenvolvimento desse protocolo foram utilizados 64 animais (n=8) separados em 8 grupos, como descritos a seguir: 1) aCSF+sal; 2) aCSF+Li; 3) aCSF+VPA; 4) aCSF+BS; 5)OUA+sal; 6)OUA+Li; 7)OUA+VPA; 8)OUA+BS. Os animais foram submetidos ao teste de campo aberto 24 horas após a última injeção i.p. de Li, VPA, BS ou Sal (ver figura 4).

### 3.4 TESTES COMPORTAMENTAIS

#### 3.4.1 Teste do Campo aberto

A atividade locomotora foi avaliada usando um campo aberto, que consiste em uma caixa de 40 x 60 cm, cercada por paredes de 50 cm de altura feitas de madeira compensada branca, com uma parede de vidro frontal e assoalho dividido em 9 retângulos iguais por linhas pretas. Os animais foram colocados delicadamente no quadrante posterior esquerdo, para que explorassem a arena durante cinco minutos. A locomoção foi

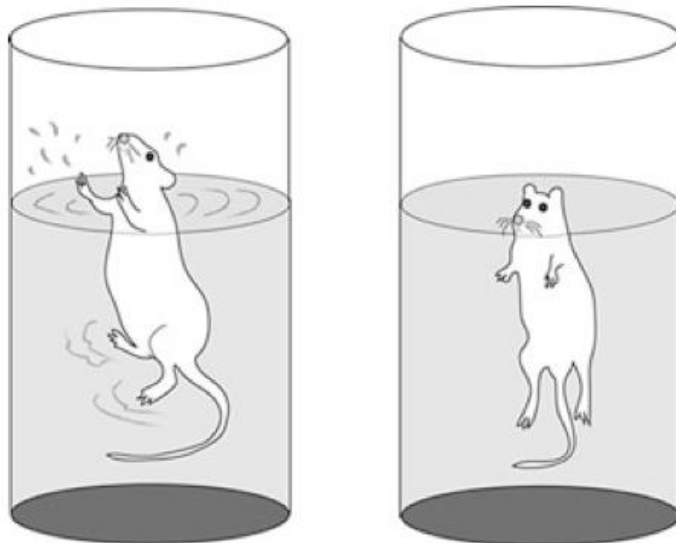
calculada contando, com ajuda de contadores, o números de cruzamentos feitos pelos ratos entre as linhas pretas.



**Figura 4:** Desenho experimental do modelo animal de mania induzido por OUA. Desenho experimental do protocolo do modelo animal de mania induzido por OUA. ICV= Injeção Intracerebroventricular; aCSF= Líquor Artificial; Li= Lítio; VPA= Valproato; BS= Butirato de Sódio; Sal= Solução Salina. Fonte: Modificado de Varela et al., 2014.

### 3.4.2 Teste do Nado forçado

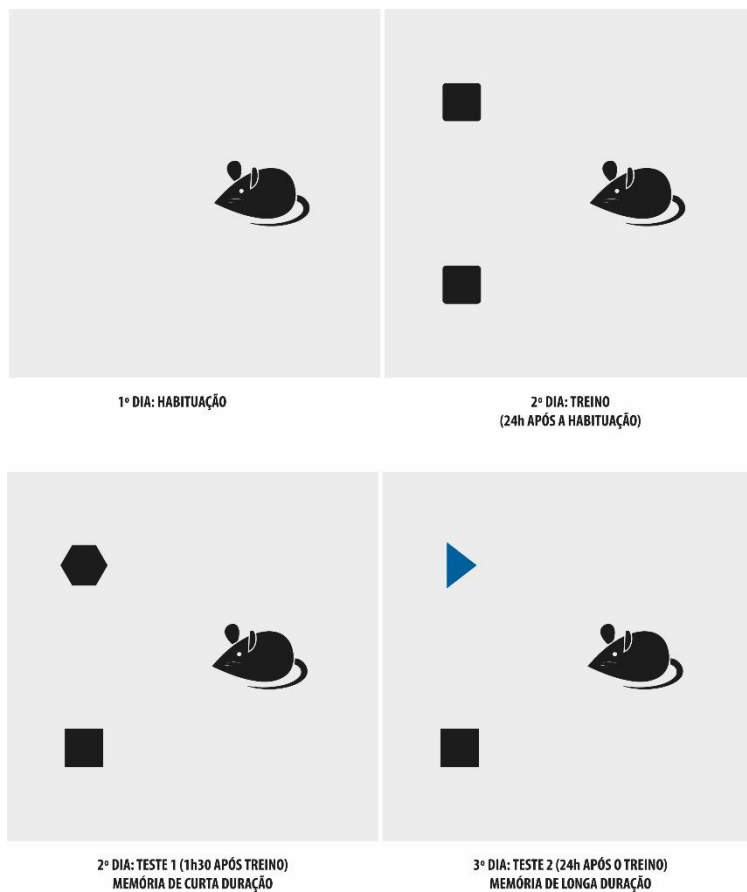
O teste de nado forçado foi realizado de acordo com a descrição de Porsolt et al (1977). Esse teste envolve duas sessões denominadas treino e teste, realizados em um tanque de formato cilíndrico cheio de água à uma temperatura de  $\pm 26^{\circ}\text{C}$  e profundidade o suficiente para o animal não conseguir tocar o fundo do tanque ou escapar. Na sessão de treino, o animal é colocado na água e deixado nadar livremente durante 15 minutos. 24 horas após o treino, o animal é recolocado no tanque para a sessão de teste. Nessa sessão é contado o tempo em que o animal fica imóvel na água, sem a intenção de nadar (ver figura 5). Esse comportamento é uma representação da desmotivação vista em pacientes.



**Figura 5:** Teste do nado forçado. O primeiro cilindro ilustra um animal durante a natação, enquanto o segundo cilindro ilustra um animal durante o período de imobilidade. No teste de nado forçado é cronometrado o tempo que o animal permanece imóvel durante cada sessão. Fonte: Valvassori, 2014.

### 3.4.3 Teste de reconhecimento de objetos

O teste de reconhecimento de objetos descrito por Izquierdo et al. (2006) foi realizado no campo aberto (descrito acima) apenas para o modelo de depressão, pois não é aplicável ao modelo de mania devido a alteração locomotora que esse modelo apresenta. Esse teste é amplamente utilizado para avaliar a capacidade de memorizar e reconhecer objetos, novos, e já conhecidos (ver figura 6).



**Figura 6:** Teste de reconhecimento de objeto. O primeiro quadrante representa o período de habituação. O segundo quadrante representa a sessão de treino quando o animal é exposto á dois objetos iguais denominados A1 e A2. O terceiro quadrante representa o teste da memória de curta duração, realizado 1,5 horas após o treino onde o animal é exposto a dois objetos diferentes na forma e igual na cor, sendo que um dos objetos é idêntico ao objeto do reino, esses objetos são denominados A e B. No último quadrante está representado o teste de longa duração, realizado 24 horas após o treino. O animal é exposto a dois objetos, um idêntico ao objeto utilizado no treino e o outro diferente tanto na forma quanto na cor. Fonte: Valvassori, 2014.



Na fase de habituação o animal é colocado na arena para explorá-la livremente durante 5 minutos. 24 horas após, o animal é recolocado no campo aberto, com dois objetos de brinquedo de Lego duplo exatamente iguais denominados A1 e A2. Os animais permanecem durante 5 minutos na arena para que explorem os objetos livremente. O tempo de exploração de cada objeto foi cronometrado, para posterior análise através do índice de reconhecimento.

No mesmo dia, 1 hora e 30 minutos após a sessão teste, é realizado o teste da memória de curta duração, onde o animal é recolocado na caixa, com dois objetos, A e B, semelhantes na cor e tamanho, porém de formas diferentes. Os animais permanecem durante 5 minutos na arena para que explorem os objetos livremente. O tempo de exploração de cada objeto foi cronometrado, para posterior análise através do índice de reconhecimento.

A fim de avaliar a memória de longa duração o animal é recolocado na caixa, 24 h após a sessão treino, com dois objetos denominados A e C, diferentes entre si na forma, cor e tamanho. Os animais permanecem durante 5 minutos na arena para explorar os objetos livremente. O tempo de exploração de cada objeto foi cronometrado, para posterior análise através do índice de reconhecimento.

Para a análise dos resultados foi utilizado o índice de reconhecimento (IR), calculado através da fórmula  $IR = TB1 / (TA1 + T1B)$  onde TA é o tempo gasto para explorar o objeto familiar, e TB é o tempo gasto para explorar o novo objeto.

### 3.5 ANÁLISES MOLECULARES

#### 3.5.1 Preparação dos tecidos

Imediatamente após os testes comportamentais, os animais foram mortos por decapitação e o cérebro foi dissecado em hipocampo e córtex pré-frontal de acordo com Glowinski e Iversen (1965). As estruturas cerebrais foram imediatamente utilizadas para os processos de análise bioquímica descritos a

seguir. Para a análise dos níveis de fatores neurotróficos (BDNF, NGF e GDNF) os tecidos cerebrais foram homogeneizados em solução tampão de fosfato (PBS) com 1 mM de fluoreto de fenilmetilsulfonilo (PMSF) e 1 mM de ácido etilenoglico bis (2-éteraminoetil)-N, N, N0N0-tetracético (EGTA).

### 3.5.2 Avaliação dos níveis cerebrais de BDNF, NGF e GDNF

Os níveis de BDNF, NGF e GDNF foram avaliados através de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA), utilizando kits comerciais de acordo com as instruções do fabricante (Chemicom, USA para NGF e BDNF; Biosensis, USA para GDNF). Microplacas (com 96 poços de fundo plano) foram incubadas durante 24 horas com amostras diluídas na concentração de 1:2 de *sample diluent* e a curva padrão variou de 7.8 a 500 pg de BDNF ou NGF. Então, as placas foram lavadas 4 vezes com *sample diluent*. O anticorpo monoclonal anti-rabbit para BDNF, anticorpo monoclonal anti-rabbit para NGF ou anticorpo policlonal anti-rabbit para GDNF diluídos em 1:1000 em *sample diluent* foi incubado durante três horas a temperatura ambiente. Após lavar, uma segunda incubação com anticorpo anti-rabbit de peroxidase conjugada diluída em 1:1000 foi realizada durante 1 hora em temperatura ambiente. Após a adição de enzima estreptavidina, substrato e *stop solution*, a quantidade de BDNF, NGF e GDNF foi determinada por absorbância em 450nm. A curva padrão demonstrou uma relação direta entre densidade optica e a concentração de BDNF, NGF e GDNF. A Proteína total foi mensurada pelo método de Lowry (1951) usando albumina sérica bovina como padrão.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados comportamentais e moleculares são apresentados como média e erro padrão da média. Diferenças entre os grupos experimentais foi determinada utilizando análise de variância de duas vias (ANOVA) seguida pelo teste post-hoc de Tukey ou Duncan. Em todas as comparações, significância estatística foi considerada para  $p < 0,05$ . Os testes estatísticos

foram realizados no software STATISTICA7® e os gráficos foram preparados no software GraphPad Prism5 ®.

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 ESTRESSE CRÔNICO MODERADO E PRIVAÇÃO MATERNA**

#### **4.1.1 Testes comportamentais**

Os resultados comportamentais dos modelos animais de depressão estão representados na figura 7. O protocolo de ECM aumentou o tempo de imobilidade no teste de nado forçado e a administração crônica de BS reverteu esta alteração comportamental (Figura 7A). O mesmo padrão de comportamento foi observado no protocolo de PM (Figura 7B). Além disso, não houve diferença significativa no teste de campo aberto em ambos os modelos (FiguraC e 7D respectivamente), testados no mesmo momento que o nado forçado, indicando que os efeitos do BS observados no teste de nado forçado não foram devido ao aumento da atividade locomotora.

#### **4.1.2 Testes de memória**

A figura 8 mostra que o protocolo de ECM (figura 8A) e PM (Figura 8B) induziram déficits cognitivos no teste de reconhecimento de objetos e esse efeito foi completamente revertido pelo tratamento com BS. Na sessão de treino, todos os grupos (estressados ou não stressados) nos protocolos de ECM e PM não apresentaram diferença no índice de reconhecimento entre os dois objetos (A1 e A2). O teste *post-hoc* de Tukey mostrou uma diferença significativa do grupo controle + Sal comparado com os grupos ECM ou PM + Sal nas memórias de curto e longo prazo (1,5 e 24h), que são indicativos do dano cognitivo induzido por ECM e PM. Interessantemente, o tratamento com BS foi capaz de reverter o declínio do índice de reconhecimento de um novo objeto induzido pelos protocolos de ECM e PM.

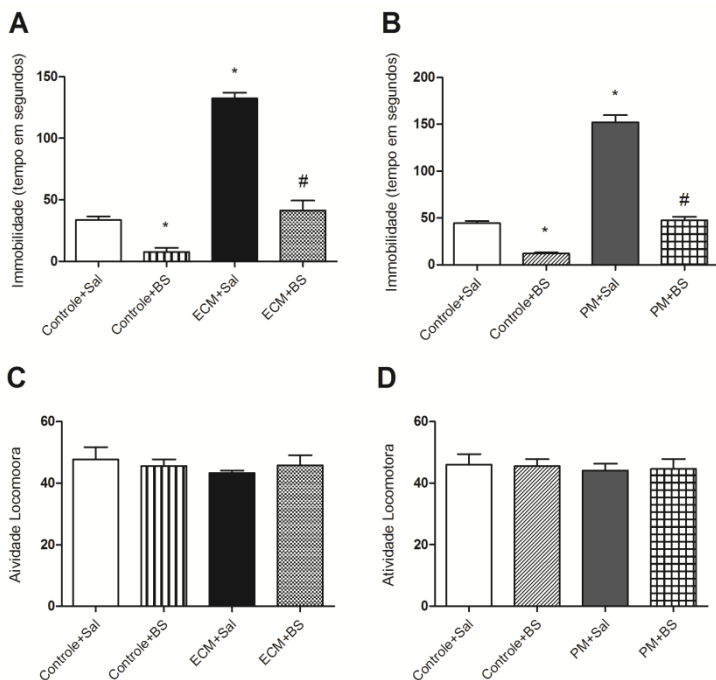
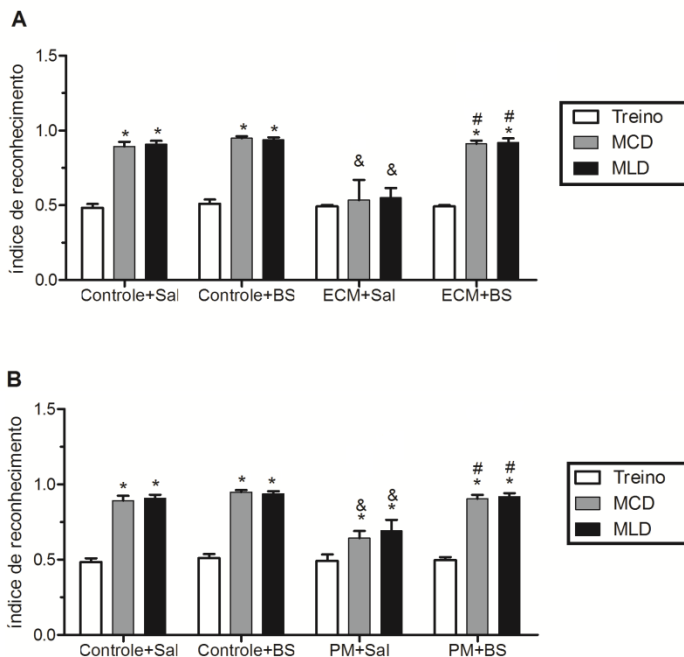


Figura 7: Efeitos do buirato de sódio (BS) sobre a imobilidade no teste do nado forçado e atividade locomotora nos protocolos de Estresse Crônico Moderado (ECM) (3A e 3C) e Privação Materna (PM) (3B e 3D). Os animais foram avaliados durante 5 minutos nos aparatos de nado forçado e campo aberto. Barras representam as médias; barras de erro representam o desvio padrão; \* $p < 0,05$  vs. grupo controle+Sal, de acordo com a análise de duas vias ANOVA seguida pelo teste post-hoc de Tukey. # $p < 0,05$  vs. grupos MD+Sal ou CMS+Sal de acordo com a análise de duas vias ANOVA seguida pelo teste post-hoc de Tukey.

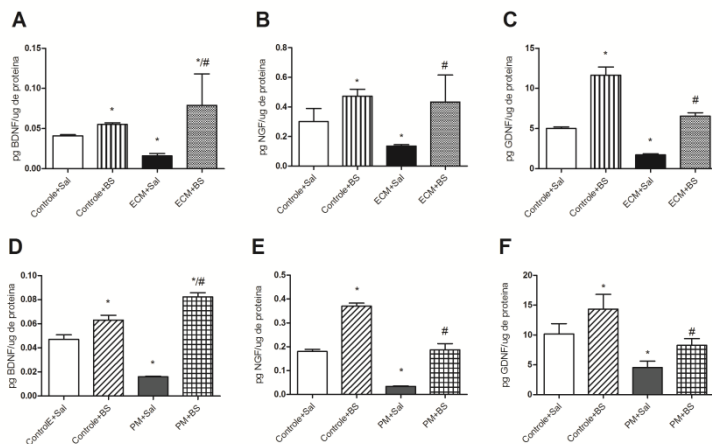
#### 4.1.3 Níveis de neurotrofinas

Os níveis de neurotrofinas estão apresentados na figura 9. A exposição ao ECM e PM diminuíram os níveis dos fatores de crescimento (BDNF, NGF e GDNF) no hipocampo dos

animais. Entretanto, nos animais expostos ao ECM e PM tratados com BS, os níveis das neurotrofinas- BDNF (figura 9A e 9D), NGF (Figura 9B e 9E) e GDNF (Figura 9C e 9F)- retornaram aos níveis basais. A administração de BS *per se* aumentou BDNF, NGF e GDNF em ambos os protocolos experimentais.



**Figura 8:** Efeitos do butirato de sódio (BS) no teste de reconhecimento de objetos em ratos submetidos aos protocolos de Estresse Crônico Moderado (ECM) (4A) e Privação Materna (PM) (4B). Índice de reconhecimento dos objetos nas sessões de treino e teste para todos os grupos. Os resultados são apresentados como média + erro padrão da média dos índices de reconhecimento. As sessões de teste foram testadas 1,5 e 24 horas após a sessão de treino. \* $p < 0,001$  comparando com o treino do mesmo grupo. & $p < 0,001$  comparado com o índice de reconhecimento do grupo Controle+Sal, # $p < 0,001$  comparado com o índice de reconhecimento do grupo ECM+Sal ou PM+Sal, de acordo com o teste ANOVA de duas vias para medidas repetidas seguido pelo teste post-hoc de Duncan

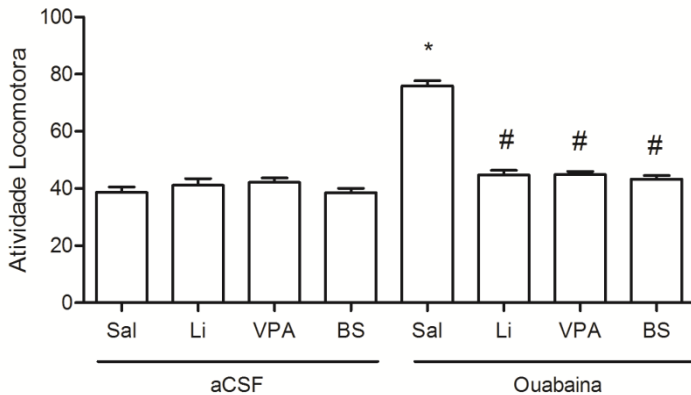


**Figura 9:** Efeitos do butirato de sódio (BS) nos níveis hipocampais de BDNF, NGF e GDNF de ratos submetidos aos protocolos de estresse crônico moderado (ECM) (5A, 5B e 5C) e privação materna (PM) (5D, 5E e 5F). As barras representam média e as barras de erro representam o desvio padrão; \* $p < 0,05$  vs. grupo controle+Sal, de acordo com o teste ANOVA de duas vias seguido pelo teste post-hoc de Tukey. # $p < 0,05$  vs. grupo ECM+Sal ou PM+Sal de acordo com o teste ANOVA de duas vias seguido pelo teste post-hoc de Tukey.

## 4.2 MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO POR OUA

### 4.2.1 Teste comportamental

Os resultados do teste de campo aberto do modelo animal de mania está representado na figura 10. A administração ICV de OUA aumentou a atividade locomotora dos ratos. Os tratamentos com Li, VPA e BS foram capazes de reverter o comportamento hiperativo induzido pela OUA. Quando coadministrados com aCSF, os tratamentos com Li, VPA e BS não alteraram o comportamento dos animais, indicando que os efeitos dos estabilizadores do humor e do BS não estão associados com sedação.



**Figura 10:** Efeitos do Lítio (Li), Valproato (VPA) e Butirato de sódio (BS) sobre a atividade locomotora de animais submetidos o modelo animal de mania induzido por ouabaína. Os animais foram avaliados durante 5 minutos no teste de campo aberto. As barras a média; barras de erro representam o desvio padrão; \* $p < 0,05$  vs. grupo aCSF+Sal, de acordo com o teste ANOVA de duas vias seguido pelo post-hoc de Tukey. # $p < 0,05$  vs. grupo ouabaína+Sal de acordo com o teste ANOVA de duas vias seguido pelo post-hoc de Tukey.

#### 4.2.2 Níveis de neurotrofinas

Os níveis de neurotrofinas para esse modelo estão apresentados na figura 11. A administração de OUA diminuiu os níveis de BDNF (figura 11A e 11D), NGF (Figura 11B e 11E) e GDNF (Figura 11C e 11F) no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais.

O tratamento com Li e BS foi capaz de reverter os níveis diminuídos das três neurotrofinas em ambas as estruturas cerebrais. Entretanto, o tratamento com VPA não foi capaz de reverter a diminuição dos níveis BDNF causado pela OUA no hipocampo. O tratamento com Li, VPA e BS *per se*, não aumentaram os níveis de neurotrofinas, exceto pelos níveis de NGF e GDNF que foram aumentados no hipocampo dos animais.



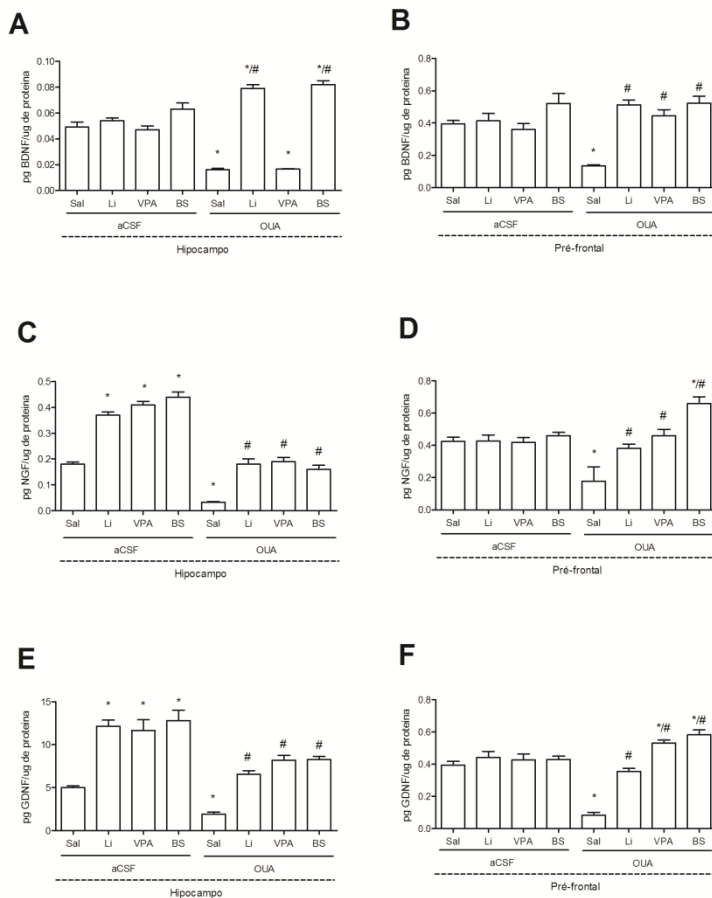


Figura 11: Efeitos do lítio (Li), valproato (VPA) e butirato de sódio (BS) sobre os níveis de BDNF (7A e 7B), NGF (7C e 7D) e GDNF (7E e 7F) no hipocampo e pré-frontal respectivamente, de ratos submetidos ao modelo animal de mania induzido por ouabaína. Barras representam média, barras de erro representam desvio padrão; \* $p < 0,05$  vs. grupo aCSF + Sal; # $p < 0,05$  vs. grupo Ouabaina + Sal de acordo com o teste ANOVA de duas vias seguido do teste post-hoc de Tukey.

## 5 DISCUSSÃO

Na primeira parte do presente estudo, foi avaliado o efeito do BS sobre o comportamento do tipo depressivo e memória de reconhecimento em ratos adultos submetidos aos modelos animais de depressão induzidos por ECM e PM. Os resultados deste estudo mostram que ECM e PM aumentam o tempo de imobilidade no teste de nado forçado e déficits cognitivos no teste de reconhecimento de objetos. Tendo em vista que eventos estressores durante a vida têm sido reportados como facilitadores da evolução dos transtornos depressivos (Calabrese et al., 2011), os modelos animais de depressão induzidos por ECM ou PM já foram previamente estabelecidos e reproduziram comportamentos do tipo depressivos em ratos, como imobilidade no teste de nado forçado e diminuição do consumo de alimento doce (Vazquez et al., 2005; Willner, 2005; Resende et al., 2013). Corroborando com nossos resultados, diversos estudos têm demonstrado que a exposição ao ECM e PM também induz danos cognitivos (Aisa et al., 2007; Andreassen et al., 2011; Pinheiro et al., 2012; Marco et al., 2013; Gumuslu et al., 2014). Já é bem descrito que a depressão é, geralmente, acompanhada por déficits cognitivos, como redução da atenção, de aprendizado, da memória, e de funções executivas (Llorente-Berzal et al., 2011; Lee et al., 2012; Llorente-Berzal et al., 2012; McIntyre et al., 2013).

O presente estudo também mostrou que o comportamento depressivo e o déficit cognitivo em ratos submetidos ao ECM e PM foram acompanhados por uma diminuição dos níveis cerebrais de BDNF, NGF e GDNF. Um considerável número de estudos têm associado o dano cognitivo com a diminuição dos níveis de neurotrofinas, ambos observados no transtorno depressivo (Soeiro-de-Souza et al., 2012; Rahn et al., 2013; Jiang e Salton, 2013). De fato, os fatores neurotróficos como BDNF, NGF e GDNF estão ligados com a formação e

plasticidade sináptica, sobrevivência e resiliência celular (Gómez-Palacio-Schjetnan e Escobar, 2013; Martin et al., 2013). Angelucci et al. (2003), utilizando modelos animais de depressão com ratos da linhagem Flinders Sensitive, também encontraram níveis diminuídos de BDNF, NGF e GDNF associados com comportamento do tipo depressivo. Do mesmo modo, animais submetidos ao protocolo de ECM apresentaram comportamento do tipo depressivo e exibiram uma significativa redução na expressão de GDNF no hipocampo, enquanto o tratamento crônico com clomipramina reverteu os déficits comportamentais e diminuição dos níveis de GDNF induzidos pela exposição ao ECM (Liu et al., 2012). Além disso, estudos prévios mostraram que o estresse crônico induz alterações na conformação das histonas e metilação do DNA no gene promotor de BDNF em cérebro de camundongos (Otsuki et al., 2012). Zhang et al. (2012) mostraram que a diminuição da expressão de BDNF no hipocampo agravou o dano cognitivo em ratos com depressão pós-trauma. Juntamente com os resultados demonstrados no presente trabalho, esses estudos sugerem que o comportamento do tipo depressivo e danos cognitivos podem estar associados com diminuição dos níveis de neurotrofinas induzido por ECM.

Llorente-Berzal et al. (2011; 2012) também tem sugerido que o dano na memória de reconhecimento está associado com baixos níveis de BDNF no hipocampo de animais submetidos a PM. Alguns estudos têm mostrado que eventos adversos durante o período pós-natal podem diminuir a expressão de proteínas sinápticas, como o BDNF, NGF, molécula de adesão celular neuronal (sigla em inglês NCAM) e sinaptofisina; danificando assim a memória espacial em ratos (Aisa et al., 2007; Biala et al., 2011; Della et al., 2013). Juntamente com os nossos resultados, esses estudos sugerem que a PM pode alterar o desenvolvimento normal do cérebro, através de um potente mecanismo pelo qual estressores ambientais precoces podem influenciar no desenvolvimento de comportamentos do tipo depressivo e dano cognitivo na vida adulta.

O comportamento depressivo, déficits cognitivos e diminuição de níveis de neurotrofinas (BDNF, NGF e GDNF) em

ambos modelos de depressão foram reestabelecidos pelo tratamento com BS. É importante enfatizar que a administração de BS por se aumentou os níveis das neurotrofinas analisadas nesse estudo (BDNF, NGF e GDNF). Estudos prévios tem demonstrado que o BS induz proliferação, migração e diferenciação celular através da estimulação da sinalização do receptor de tropomiosina quinase B (sigla em inglês TrkB) pelo BDNF (Kim et al., 2009). Um estudo in vitro também mostrou que os inibidores de HDAC, BS e tricostatina A up-regulam a expressão de GDNF e BDNF em astrócitos e protegem neurônios dopaminérgicos, pelo menos em parte, através da inibição de HDAC (Wu et al., 2008). Lu et al. (2013) demonstraram que a administração de LB-205, um inibidor global de HDACs, após a indução de traumatismo craniano-encefálico preserva a expressão de NGF e ativação das vias de sobrevivência de receptor de tropomiosina quinase A (sigla em inglês TrkA). Além disso, VPA e BS aumentam significativamente a expressão e liberação de BDNF em um modelo de insulto isquêmico (Hasan et al., 2013).

Estudos prévios do nosso laboratório demonstraram que o tratamento com BS reverte tanto o aumento do tempo de imobilidade no teste de nado forçado quanto a diminuição do consumo de alimento doce induzidos pelo ECM e PM (Han et al., 2014). É importante notar que a maioria dos antidepressivos que revertem o dano cognitivo em modelos animais também up-regulam os fatores neurotróficos no cérebro de ratos (Liu et al., 2012; Della et al., 2013; Castrén e Rantamäki, 2010; Yan et al., 2011). Um fato interessante é que a infusão direta de BDNF no hipocampo promove a liberação de serotonina e efeitos comportamentais do tipo antidepressivos em ratos submetidos a modelos de depressão (Shirayama et al., 2002). Um estudo usando modelo de encefalopatia séptica tem demonstrado que o VPA, é capaz de reverter danos cognitivos por up-regular a expressão de BDNF (Wu et al., 2008). Estudos pré-clínicos tem demonstrado que inibidores de HDAC aumentam memória de longo prazo tanto por aquisição quanto por extinção no teste do medo condicionado contextual (Bredy e Barad, 2008; Kaplan e Moore, 2011).

No presente estudo foi demonstrado também que a OUA, um inibidor da  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase, induziu comportamento do tipo maníaco, como previamente descrito por diversos autores (El-mallakh et al., 1995; Jornada et al., 2011). A enzima  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase bombeia sódio para fora e potássio para dentro da célula, tendo papel essencial no processo de repolarização do neurônio, fazendo o mesmo voltar ao estado de repouso após a despolarização. Portanto, a inibição dessa enzima pela OUA induz a excitação neuronal através do prolongamento do estado de despolarização (Herman et al., 2007; McCarren e Alger, 1989; El-Mallack et al., 1995; El-Mallakh e Wyatt, 1995), que está relacionada a hiperatividade e alterações bioquímicas observadas em ratos. De fato, a atividade reduzida da  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase e aumento de sódio e cálcio intracelular têm sido reportado em eritrócitos de pacientes bipolares (El-Mallakh et al., 1995). Considerando que  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase têm um papel importante na regulação da atividade neural, liberação de neurotransmissores e comportamento animal (Vaillend et al., 2002; Vatta et al., 2004; moseley et al., 2007), pode ser sugerido que o comportamento do tipo maníaco induzido pela administração de OUA em ratos é proveniente de uma disfunção da  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase, semelhante ao que é reportado na clínica em pacientes bipolares.

Os fármacos Li e VPA têm sido considerados como “padrão ouro” para o tratamento do TB, por serem efetivos no tratamento de episódios maníacos agudos e no tratamento de manutenção contra novos episódios recorrentes do humor, além de apresentarem modestas propriedades antidepressivas (Davis et al., 2005; Keck and McElroy, 2002; Zarate et al., 2006). Sendo assim, uma nova farmacoterapia deve apresentar similaridade aos efeitos do Li e/ou VPA sobre o comportamento, mecanismos bioquímicos e neuroproteção. No presente estudo, assim como Li e VPA, o BS reverteu a hiperatividade induzida pela administração de OUA nos ratos. De fato, recentes estudos do nosso laboratório de pesquisa têm reportado que o tratamento com BS previne e reverte o comportamento do tipo maníaco induzido por OUA e d-anfetamina (Arent et al., 2011; Moretti et

al., 2011; Resende et al., 2013; Steckert et al., 2013; Valvassori et al., 2013; Stertz et al., 2014).

A hiperatividade induzida pela OUA também foi acompanhada pela diminuição nos níveis de BDNF, NGF e GDNF no hipocampo e córtex pré-frontal de ratos. Esses dados reforçam os resultados de trabalhos anteriores que mostraram uma diminuição de BDNF em cérebro de ratos após a microinjeção ICV de OUA (Jornada et al., 2010), entretanto esses são os primeiros resultados que mostram a diminuição de NGF e GDNF nesse modelo. Muitos estudos tem mostrado que a inibição da  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase induzida pela OUA pode ativar diversas vias de sinalização intracelular, modificando muitas funções celulares como a proliferação celular, hipertrofia, apoptose, mobilidade e metabolismo (Blanco e Wallace, 2013). Utilizando dados eletrofisiológicos, Sui et al. (2013) mostraram que a OUA diminui a plasticidade das sinapses de longa e curta duração. No mesmo estudo os autores mostraram que o tratamento com Li preveniu essas alterações na plasticidade sináptica induzida pela OUA. A transdução do sinal da  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase desencadeia o crescimento dendrítico, programas de transcrição dependentes da roteína de ligação ao elemento de resposta do AMP-cíclico (AMPC) (sigla em inglês CREB) e expressão gênica mediada pelo elemento de resposta ao AMPC (CRE), primariamente regulada pelas quinases dependentes de  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina (Desfrere et al., 2009; Johar et al., 2014). Já é conhecido que a CREB é um importante regulador da expressão gênica de fatores neurotróficos (Pizzorusso et al., 2000; Riccio et al., 1999; Hisaoka et al., 2008). Desta forma, uma possível explicação para a alteração dos níveis de neurotrofinas nesse modelo é de que a inibição da  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase induzida pela OUA pode prejudicar a transdução do sinal da  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase e, consequentemente, diminuir os níveis de BDNF, NGF e GDNF no hipocampo e pré-frontal dos animais.

Nesse modelo, foi demonstrado também que o tratamento com BS assim como Li e VPA reverteram a diminuição de BDNF, NGF e GDNF induzida pela OUA no córtex pré-frontal; entretanto, no hipocampo, apenas Li e BS

reverteram o dano causado pela OUA sobre os níveis dos fatores neurotróficos. Além disso, o tratamento com BS, bem como Li e VPA *per se* aumentaram os níveis de NGF e GDNF no hipocampo dos animais. É bem descrito na literatura que o Li ativa seletivamente o promotor IV de BDNF de neurônios primários e eleva os níveis dessa neurotrofina no hipocampo e córtex frontal e temporal de ratos (Frey et al., 2006a; Yasuda et al., 2009). Além disso, alguns estudos tem demonstrado que o Li aumenta os níveis de proteínas neuroprotetoras, como a Bcl-2, NT-3, PKA, CREB e BDNF (Manji et al., 2000; Cechinel-Recco et al., 2012; Walz et al., 2008), e down-regula a expressão dos genes pró-apoptóticos Bax e GSK-3 (Chen and Chuang, 1999; Cechinel-Recco et al., 2012) em cérebro de ratos. Estudos tem demonstrado que o aumento da síntese de BDNF, NGF e GDNF no hipocampo parece ser neuroprotetor e antiapoptótico; portanto, pode ser sugerido que Li exerce sua ação neurotrófica/neuroprotetora através da modulação dessas moléculas no cérebro (Hellweg et al., 2002; Angelucci et al., 2003; Frey et al., 2006a, 2006b).

É importante observar que no presente estudo VPA não reverteu a diminuição dos níveis de BDNF induzida pela OUA no hipocampo. Os dados demonstrados aqui reproduzem resultados de estudos anteriores, onde o VPA não foi capaz de reverter a diminuição de BDNF induzida pela OUA (Jornada et al., 2010). Além disso, outro estudo demonstrou que o tratamento com VPA preveniu (14 dias de tratamento) mas não reverteu (7 dias de tratamento) a diminuição de BDNF em cérebros de ratos submetidos ao modelo animal de mania induzido por d-*anfetamina* (Frey et al., 2006a). Uma possível explicação para essa discrepância é a diferença metodológica entre os estudos. Possivelmente um tratamento mais longo ou com uma dose maior de VPA poderia reverter a alteração nos níveis de BDNF induzidas por OUA. Por outro lado, no presente estudo mostramos que o VPA reverteu a diminuição dos níveis de NGF e GDNF induzidos por OUA.

Em estudos prévios foi demonstrado que inibidores de HDAC, BS e tricostatina A, *upregulam* a expressão de GDNF

e BDNF em astrócitos, protegendo neurônios dopaminérgicos (Wu et al., 2008). Além disso, inibidores de HDAC, tricostatina A, BS e VPA aumentam a expressão do gene de BDNF, por estimular a liberação de serotonina em células de glioma (Morita et al., 2009). Têm-se sugerido que a diferenciação de células gliais está fortemente associada com a proteção de células neuronais, fato esse que pode estar ligado ao aumento de sua habilidade em produzir BDNF em resposta à estimulação da serotonina (Morita e Her, 2008). Kim et al. (2009) demonstraram previamente que o tratamento com BS também aumentou o número de células que expressam a molécula de adesão da célula neuronal, nestina, proteína ácida fribilar glial, CREB e BDNF em várias regiões cerebrais após a esquizofrenia cerebral, o que pode contribuir para os efeitos benéficos do BS. É bem descrito na literatura que inibidores de HDAC, incluindo BS e VPA, alteram a transcrição gênica, incluindo genes de neurotrofinas (Fukumoto et al., 2001; Yasuda et al., 2009; Halsall et al., 2012). A partir desses estudos pode-se sugerir que as neurotrofinas são importantes alvos finais dos inibidores das HDAC. A respeito disso, é possível sugerir que o aumento da transcrição de neurotrofinas possa contribuir para os efeitos terapêuticos do BS.

Considerando que as HDAC dificultam a transcrição gênica por remover grupamentos acetil das histonas, pode ser sugerido que a inibição das HDAC, que em termos facilita a transcrição gênica, pode ser um importante *link* para o aumento dos níveis de BDNF, NGF e GDNF induzidos pela administração de BS observados nesse estudo. Portanto, o BS pode estar agindo como antimaníaco e antidepressivo, assim como melhorando a cognição dos ratos estressados por meio do aumento dos níveis de fatores neurotróficos no cérebro dos ratos submetidos aos modelos animais de depressão induzidos por ECM ou PM e mania induzido por OUA.

Entretanto, apesar dos resultados positivos encontrados no presente estudo, algumas características do BS a respeito do seu papel em outros processos intracelulares devem ser levados em consideração. Primeiramente, já é descrito que altas concentrações de inibidores de HDAC, semelhante às



utilizadas para o tratamento do câncer, são capazes de ativar vias intrínsecas e extrínsecas de apoptose (Shin et al., 2012). As enzima HAT e HDAC utilizam como substrato outras proteínas, além das histonas, como por exemplo, a tubulina, p53, proteína de especificidade 1 (singla do inglês – Sp1), Smad7, CREB, fator de transcrição pleotrópico nuclear Kappa B (NF-κB), e transdutores de sinal e ativadores da transcrição-1 (STAT-1) (Itoh et al., 2008; Kazantsev e Thompson, 2008).

Além disso, o excesso de acetilação das histonas dificulta a condensação da cromatina e organização do cromossomo, um evento essencial para a divisão celular, sendo assim, a possível inibição excessiva das HDACs causada por uma longa exposição ao BS poderia interferir interrompendo o processo mitótico (Gabrielli e Brown, 2012).

Não existem dados suficientes na literatura clínica que demonstre alteração da atividade da HDAC na depressão ou TB (Peña et al., 2014), sendo assim, o tratamento com BS poderia alterar os níveis basais de acetilação de histonas nos pacientes. Tendo em vista, que o tratamento desses transtornos se caracteriza pelo uso crônico dos agentes farmacológicos, antidepressivos e estabilizadores do humor (Kapczinski e Quevedo, 2009; Quevedo et al., 2013), deve-se levar em consideração, os possíveis efeitos colaterais da administração de um inibidor de histonas deacetilase em longo prazo.

## 6. CONCLUSÃO

Em suma, esses resultados reforçam a importância do papel das neurotrofinas na fisiopatologia dos transtornos do humor e no mecanismo de ação de agentes terapêuticos já utilizados na prática clínica, como Li e VPA.

Além disso, os achados do presente estudo sugerem que o aumento dos níveis dos fatores neurotróficos, BDNF, NGF e BDNF, os quais são associados à plasticidade celular, pode ser um dos mecanismos pelo qual o BS apresenta efeitos neuroprotetores, antidepressivos e antimaníacos em animais submetidos aos protocolos de ECM, PM e à administração de OUA. O que ressalta a importância de mais estudos com HDAC em modelos animais para melhor elucidar o papel da epigenética na fisiopatologia e tratamento dos transtornos do humor.

## REFERÊNCIAS

Aas M, Steen NE, Agartz I, Aminoff SR, Lorentzen S, Sundet K, Andreassen OA, Melle I. Is cognitive impairment following early life stress in severe mental disorders based on specific or general cognitive functioning?. *Psychiatry Res.* 2012; 198(3):495-500.

Abel T, Zukin RS. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Curr Opin Pharmacol.* 2008; 8:57-64.

Aisa B, Tordera R, Lasheras B, Del-Rio J, Ramírez MJ. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology.* 2007; 32(3):256-66.

Allen SJ, Watson JJ, Shoemark DK, Barua NU, Patel NK. GDNF, NGF and BDNF as therapeutic options for neurodegeneration. *Pharmacol Ther.* 2013; 138(2):155-75.

Allfrey VG, Mirsky AE. Structural Modifications of Histones and their Possible Role in the Regulation of RNA Synthesis. *Science.* 1964; 144:559.

American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 5<sup>a</sup> ed. Washinton, DC: American Psychiatric Publishing; 2013.

Andreasen JT, Henningsen K, Bate S, Christiansen S, Wiborg O. Nicotine reverses anhedonic-like response and cognitive impairment in the rat chronic mild stress model of depression: comparison with sertraline. *J Psychopharmacol.* 2011; 25(8): 1134-41.

Angelucci F, Aloe L, Jiménez-Vasquez P, Mathé AA. Lithium treatment alters brain concentrations of nerve growth factor, brain-derived

neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor in a rat model of depression. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2003; 6(3):225-31.

Arent CO, Valvassori SS, Fries GR, Stertz L, Ferreira CL, Lopes-Borges J, Mariot E, Varela RB, Ornell F, Kapczinski F, Andersen ML, Quevedo J. Neuroanatomical profile of antimaniac effects of histone deacetylases inhibitors. *Mol Neurobiol*. 2011; 43(3):207-14.

Arts B, Jabben N, Krabbendam L, van Os J. Meta-analyses of cognitive functioning in euthymic bipolar patients and their first-degree relatives. *Psychol Med*. 2008; 38(6):771-785.

Bai M, Zhang L, Zhu X, Zhang Y, Zhang S, Xue L. Comparison of depressive behaviors induced by three stress paradigms in rats. *Physiol Behav*. 2014; 131:81-6.

Banerjee U, Dasgupta A, Rout JK, Singh OP. Effects of lithium therapy on Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activity and lipid peroxidation in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012; 37(1):56-61.

Barbosa IG, Huguet RB, Neves FS, Reis HJ, Bauer ME, Janka Z, Palotás A, Teixeira AL. Impaired nerve growth factor homeostasis in patients with bipolar disorder. *World J Biol Psychiatry*. 2011a; 12(3):228-32.

Barbosa IG, Huguet RB, Sousa LP, Abreu MN, Rocha NP, Bauer ME, Carvalho LA, Teixeira AL. Circulating levels of GDNF in bipolar disorder. *Neurosci Lett*. 2011b; 502(2):103-6.

Bearden CE, Hoffman KM, Cannon TD. The neuropsychology and neuroanatomy of bipolar affective disorder: a critical review. *Bipolar Disord*. 2001; 3:106-50.

Biala YN, Bogoch Y, Bejar C, Linial M, Weinsock M. Prenatal stress diminishes gender differences in behavior and in expression of hippocampal synaptic genes and proteins in rats. *Hippocampus*. 2011; 21(10): 1114-25.

Blanco G, Wallace DP. Novel role of ouabain as a cytogenic factor in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013; 305:797-812.

Boger HA, Middaugh LD, Huang P, Zaman V, Smith AC, Hoffer BJ, Tomac AC, Granholm AC. A partial GDNF depletion leads to earlier age-related deterioration of motor function and tyrosine hydroxylase expression in the substantianigra. *Exp Neurol.* 2006; 202:336-47.

Bratlien U, Oie M, Haug E, Moller P, Andreassen OA, Lien L, Melle I. Environmental factors during adolescence associated with later development of psychotic disorders – a nested case-control study. *Psychiatry Res.* 2014; 215(3):579–585.

Bredy TW, Barad M. The histone deacetylase inhibitor valproic acid enhances acquisition, extinction, and reconsolidation of conditioned fear. *Learn Mem.* 2008; 15(1): 39-45.

Brunoni AR, Baeken C, Machado-Vieira R, Gattaz WF, Vanderhasselt MA. BDNF blood levels after non-invasive brain stimulation interventions in major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis. *World J Biol Psychiatry.* 2014; 29:1-9.

Buoli M, Caldiroli A, Caletti E, Zugno E, Altamura AC. The impact of mood episodes and duration of illness on cognition in bipolar disorder. *Compr Psychiatry.* 2014; 55(7):1561-6.

Bymaster FP, McNamara RK, Tran PV. New approaches to developing antidepressants by enhancing monoaminergic neurotransmission. *Expert Opin Investig Drugs.* 2003;12(4):531-43.

Calabrese JR, Hirschfeld RM, Reed M, Davies MA, Frye MA, Keck PE, Lewis L, McElroy SL, McNulty JP, Wagner KD. Impact of bipolar disorder on a U.S. community sample. *J Clin Psychiatry.* 2003; 64(4):425-32.

Calabrese F, Molteni R, Riva MA. Antistress properties of antidepressant drugs and their clinical implications. *Pharmacol Ther.* 2011; 132(1): 39-56.

Camelo S, Iglesias AH, Hwang D, Due B, Ryu H, Smith K, Gray SG, Imitola J, Duran G, Assaf B, Langley B, Khoury SJ, Stephanopoulos G, De Girolami U, Ratan RR, Ferrante RJ, Dangond F. Transcriptional therapy with the histone deacetylase inhibitor trichostatin A ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol.* 2005; 164:10-21.

Candido EPM, Reeves R, Davle JR. Sodium butyrate inhibits histone deacetylation in cultured cells. *Cell.* 1978; 14:105-113.

Carlson PJ, Singh JB, Zarate CA Jr, Drevets WC, Manji HK. Neural circuitry and neuroplasticity in mood disorders: insights for novel therapeutic targets. *NeuroRx.* 2006, 3(1):22-41.

Carvalho AF, Miskowiak KK, Hyphantis TN, Kohler CA, Alves GS, Bortolato B, Sales PM, Machado-Vieira R, Berk M, McIntyre RS. Cognitive Dysfunction in Depression - Pathophysiology and Novel Targets. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2014; *in press*

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

Cechinel-Recco K, Valvassori SS, Varela RB, Resende WR, Arent CO, Vitto MF, et al. Lithium and tamoxifen modulate cellular plasticity cascades in animal model of mania. *J Psychopharmacol.* 2012; 26(12):1594-604.

Chateauvieux S, Morceau F, Dicato M, Diederich M. Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid. *J Biomed Biotechnol.* 2010; 2010:1-18.

Chen R-W, Chuang D-M. Long term lithium treatment suppresses p53 and Bax expression but increases Bcl-2 expression. *J Biol Chem.* 1999; 274:6039–6042.

Chen SK, Tyrdik P, Peden E, Cho S, Wu S, Spangrude G, Capecchi MR. Hematopoietic origin of pathological grooming in *Hoxb8* mutant mice. *Cell.* 2010; 141:775-85.

Chiu CT, Wang Z, Hunsberger JG, Chuang DM. Therapeutic potential of mood stabilizers lithium and valproic acid: beyond bipolar disorder. *Pharmacol Rev.* 2013; 65(1):105-42.

Choi S, Han KM, Won E, Yoon BJ, Lee MS, Ham BJ. Association of brain-derived neurotrophic factor DNA methylation and reduced white matter integrity in the anterior corona radiata in major depression. *J Affect Disord.* 2014; 172C:74-80.

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

Chuang DM, Leng Y, Marinova Z, Kim HJ, Chiu CT. Multiple roles of HDAC inhibition in neurodegenerative conditions. *Trends Neurosci.* 2009; 32:591-01.

Cirulli F, Alleva E. The NGF saga: from animal models of psychosocial stress to stress-related psychopathology. *Front Neuroendocrinol.* 2009; 30(3):379-95.

Cunha AB, Frey BN, Andreatza AC, Goi JD, Rosa AR, Goncalves CA, Santin A, Kapczinski F. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neurosci Lett.* 2006; 398:215-9.

Davis LL, Bartolucci A, Petty F. Divalproex in the treatment of bipolar depression: a placebo-controlled study. *J Affect Disord.* 2005; 85(3):259-66.

De Azevedo-Cardoso T, Mondin TC, Wiener CD, Marques MB, Fucolo Bde A, Pinheiro RT, de Souza LD, da Silva RA, Jansen K, Oses JP. Neurotrophic factors, clinical features and gender differences in depression. *Neurochem Res.* 2014; 39(8):1571-8.

de Bartolomeis A, Buonaguro EF, Iasevoli F, Tomasetti C. The emerging role of dopamine-glutamate interaction and of the postsynaptic density in bipolar disorder pathophysiology: Implications for treatment. *J Psychopharmacol.* 2014; 28(6):505-526.

Della FP, Abelaira HM, Réus GZ, Sanos MA, Tomaz DB, Antunes AR, Scaini G, Morais MO, Streck EL, Quevedo J. Treatment with tianeptine induces antidepressive-like effects and alters the neurotrophin levels, mitochondrial respiratory chain and cycle Krebs enzymes in the brain of maternally deprived adult rats. *Metab Brain Dis.* 2013; 28(1): 93-105.

Desfrere L, Karlsson M, Hiyoshi H, Malmersjo S, Nanou E, Estrada M, Miyakama A, Lagercrantz H, El-Manira A, Lal M, Uhlén P. Na,KATPase signal transduction triggers CREB activation and dendritic growth. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106(7):2212-7.

Diniz BS, Teixeira AL, Miranda AS, Talib LL, Gattaz WF, Forlenza OV. Circulating Glial-derived neurotrophic factor is reduced in late-life depression. *J Psychiatr Res.* 2012; 46(1):135-9.

Dong Q, Sharma S, Liu H, Chen L, Gu B, Sun X, Wang G. HDAC inhibitors reverse acquired radio resistance of KYSE-150R esophageal carcinoma cells by modulating Bmi-1 expression. *Toxicol Lett.* 2014; 224(1):121-9

Dulac C. Brain function and chromatin plasticity. *Nature.* 2010; 465:728-735.

Dumas JA, Newhouse PA. Impaired Working Memory in Geriatric Depression: An fMRI Study. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2014; S1064-7481(14)00281-4.



Eichenbaum, H. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci.* 2000; 1(1):41–50.

Elcombe EL, Lagopoulos J, Duffy S, Lewis SJ, Norrie L, Hickie IB, Naismith SL. Hippocampal Volume in Older Adults at Risk of Cognitive Decline: The Role of Sleep, Vascular Risk, and Depression. *J Alzheimers Dis.* 2014; *In Press.*

El-Mallakh RS, Harrison LT, Li R, Changaris DG, Levy RS. An animal model for mania: preliminary results. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1995;19(5): 955-62.

El-Mallakh RS, Wyatt RJ. The Na,K-ATPase hypothesis for bipolar illness. *Biol Psychiatry.* 1995; 37(4):235-44.

El-Mallakh RS, El-Masri MA, Huff MO, Li XP, Decker S, Levy RS. Intracerebroventricular administration of ouabain as a model of mania in rats. *Bipolar Disord.* 2003; 5(5):362-5.

Falkenberg KJ, Johnstone RW. Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2014; 13(9):673-91.

Fava M. Symptoms of fatigue and cognitive/executive dysfunction in major depressive disorder before and after antidepressant treatment. *J Clin Psychiatry.* 2003; (14):30–4.

Fernandes BS, Gama CS, Cereser KM, Yathan LN, Fries GR, Colpo G, de Lucena D, Kunz M, Gomes FA, Kapczinski F. 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.

Fornaro M, Escelsior A, Rocchi G, Conio B, Magioncalda P, Marozzi V, Presta A, Sterlini B, Contini P, Amore M, Fornaro P, Martino M. BDNF plasma levels variations in major depressed patients receiving duloxetine. *Neurol Sci.* 2014; *In Press.*

Fortunato JJ, Reus GZ, Kirsch TR, Stringari RB, Fries GR, Kapczinski F, Hallak JE, Zuardi AW, Crippa JA, Quevedo J. Effects of beta-carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: further evidence of antidepressant properties. *Brain Res Bull.* 2010; 81:491-6.

Frey BN, Andreazza AC, Cereser KM, Martins MR, Valvassori SS, Réus GZ, Quevedo J, Kapczinski F. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. *Life Sci.* 2006a; 79(3):281-6.

Frey BN, Andreazza AC, Rosa AR, Martins MR, Valvassori SS, Réus GZ, Hatch JP, Quevedo J, Kapczinski F. Lithium increases nerve growth factor levels in the rat hippocampus in an animal model of mania. *Behav Pharmacol.* 2006b; 17(4):311-8.

Fries GR, Pfaffenseller B, Stertz L, Paz AV, Dargél AA, Kunz M, Kapczinski F. Staging and neuroprogression in bipolar disorder. *Curr Psychiatry Rep.* 2012; 14(6):667-75.

Fucic A, Stojkovi R, Miskovic S, Zeljezic D, Markovic D, Gjergjac R, Katica J, Jazbec AM, Bakulic TI, Demarin V. Transplacental genotoxicity of antiepileptic drugs: Animal model and pilot study on mother/newborn cohort. *Reproductive Toxicology.* 2010; 30:613-18.

Fujishima M, Maikusa N, Nakamura K, Nakatsuka M, Matsuda H, Meguro K. Mild cognitive impairment, poor episodic memory, and late-life depression are associated with cerebral cortical thinning and increased white matter hyperintensities. *Front Aging Neurosci.* 2014; 6:306.

Fukumoto T, Morinobu S, Okamoto Y, Kagaya A, Yamawaki S. Chronic lithium treatment increases the expression of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain. *Psychopharmacology.* 2001;158(1):100-6.

Gabrielli B, Brown M. Histone deacetylase inhibitors disrupt the mitotic spindle assembly checkpoint by targeting histone and nonhistone proteins. *Adv Cancer Res.* 2012; 116:1-37.

- Gallagher P, Gray JM, Kessels RP. Fractionation of visuo-spatial memory processes in bipolar depression: a cognitive scaffolding account. *Psychol Med.* 2014; 17:1-14.
- Gama CS, Kunz M, Magalhães PVS, Kapczinski F. Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. *Rev Bras Psiquiatr.* 2013; 35:70-4.
- Gamaro GD, Manoli LP, Torres IL, Silveira R, Dalmaz C. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochem Int.* 2003; 42(2): 107-14.
- Geddes JR, Miklowitz DJ. Treatment of bipolar disorder. *Lancet.* 2013; 381(9878): 1672-1682.
- Genton P, Semah F, Trinka E. Valproic acid in epilepsy: pregnancy-related issues. *Drug Saf.* 2006; 29(1):1-21.
- Gilliam M, Forbes EE, Gianaros PJ, Erickson KI, Brennan LM, Shaw DS. Maternal depression in childhood and aggression in young adulthood: evidence for mediation by offspring amygdala - hippocampal volume ratio. *J Child Psychol Psychiatry.* 2014; *In press.*
- Glowinski J, Iversen LL. Regional studies of catecholamines in the rat brain: the disposition of (3H) norepinephrine, (3H) dopamine and (3H) dopa in various regions of the brain. *J Neurochem.* 1965; 13:655-69.
- Gómez-Palacio-Schjetnan A, Escobar ML. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Curr Top Behav Neurosci.* 2013; 15:117-36.
- Göttlicher M, Minucci S, Zhu P, Krämer OH, Schimpf A, Giavara S, Sleeman JP, Coco FL, Nervi C, Pelicci PG, Heinzell T. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. *EMBO J.* 2001; 20(24):6969-78.

Grah M, Mihanovic M, Ruljancic N, Restek-Petrovic B, Molnar S, Jelavic S. Brain-derived neurotrophic factor as a suicide factor in mental disorders. *Acta Neuropsychiatr.* 2014; 26(6):356-63.

Granhölm AC, Reylund M, Albeck D, Sanders L, Gerhardt G, Hoernig G, Shen L, Westphal H, Hoffer B. Glial cell line-derived neurotrophic factor is essential for postnatal survival of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci.* 2000; 20:3182-90.

Grissom NM, Reyes TM. Gestational overgrowth and undergrowth affect neurodevelopment: similarities and differences from behavior to epigenetics. *Int J Dev Neurosci.* 2013; 31:406–414.

Grosso S, Mostardini R, Piccini B, Balestri P. Body mass index and serum lipid changes during treatment with valproic acid in children with epilepsy. *Ann Pharmacother.* 2009; 43:45-50.

Guintivano J, Kaminsky ZA. Role of epigenetic factors in the development of mental illness throughout life. *Neurosci Res.* 2014; *In press.*

Gumuslu E, Mutlu O, Sunnetci D, Ulak G, Celikyurt LK, Cine N, Akar F, Savli H, Erden F. The Antidepressant Agomelatine Improves Memory Deterioration and Upregulates CREB and BDNF Gene Expression Levels in Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS)-Exposed Mice. *Drug Target Insights.* 2014; 8: 11-21.

Gurard-Levin ZA, Almouzni G. Histone modifications and a choice of variant: a language that helps the genome express itself. *F1000 Prime Rep.* 2014; 6:76.

Gurvich N, Tsygankova OM, Meinkoth JL, Klein PS. Histone deacetylase is a target of valproic acid-mediated cellular differentiation. *Cancer Res.* 2004; 64(3):1079-86.

Gutiérrez B, Bellón JA, Rivera M, Molina E, King M, Marston L, Torres-González F, Moreno-Küstner B, Moreno-Peral P, Motrico E, Montón-

Franco C, GildeGómez-Barragán MJ, Sánchez-Celaya M, Díaz-Barreiros MA, Vicens C, de Dios Luna J, Nazareth I, Cervilla J. The risk for major depression conferred by childhood maltreatment is multiplied by BDNF and SERT genetic vulnerability: a replication study. *J Psychiatry Neurosci.* 2014; 39(6):140097.

Haase J, Brown E. Integrating the monoamine, neurotrophin and cytokine hypotheses of depression - A central role for the serotonin transporter?. *Pharmacol Ther.* 2014; *In press.*

Hallahan B, Newell J, Soares JC, Brambilla P, Strakowski SM, Fleck DE, Kiesppä T, Altshuler LL, Fornio A, Malhi GS, McInosh AM, Yurgelun-Todd DA, Labar KS, Sharma V, MacQueen GM, Murray RM, McDonald C. Structural magnetic resonance imaging in bipolar disorder: An international collaborative mega-analysis of individual adult patient data. *Biol Psychiatry.* 2011; 69:326–335.

Halsall J, Gupta V, O'Neill LP, Turner BM, Nightingale KP. Genes are often sheltered from the global histone hyperacetylation induced by HDAC inhibitors. *PLoS ONE.* 2012; 7(3):e33453.

Han A, Sung YB, Chung SY, Kwon MS. Possible additional antidepressant-like mechanism of sodium butyrate: targeting the hippocampus. *Neuropharmacology.* 2014; 81:292-302.

Hasan MR, Kim JH, Kim YJ, Kwon KJ, Shin CY, Kim HY, Han SH, Choi DH, Lee J. Effect of HDAC inhibitors on neuroprotection and neurite outgrowth in primary rat cortical neurons following ischemic insult. *Neurochem Res.* 2013; 38(9):1921-4.

Hashimoto K. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its precursor proBDNF as diagnostic biomarkers for major depressive disorder and bipolar disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2014; *In press.*

Hellweg R, Lang UE, Nagel M, Baumgartner A. Subchronic treatment with lithium increases nerve growth factor content in distinct brain regions of adult rats. *Mol Psychiatry.* 2002; 7(6):604-8.

Herman L, Houglund T, El-Mallakh RS. Mimicking human bipolar ion dysregulation models mania in rats. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007;31:874-81.

Hisaoka K, Maeda N, Tsuchioka M, Takebayashi M. Antidepressants induce acute CREB phosphorylation and CRE-mediated gene expression in glial cells: a possible contribution to GDNF production. *Brain Res.* 2008; 1196:53-8.

Hoffer BJ, Hoffman A, Bowenkamp K, Huetti P, Hudson J, Martin D, Lin LF, Gerhardt GA. Glial cell line-derived neurotrophic factor reverses toxin-induced injury to midbrain dopaminergic neurons in vivo. *Neurosci Lett.* 1994;182:107-11.

Itoh Y, Suzuki T, Miyata N. Isoform-selective histone deacetylase inhibitors. *Curr Pharm Des.* 2008; 14(6):529-44.

Izquierdo I, Bevilaqua LRM, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci.* 2006; 29:496-05.

Jiang C, Salton SR. The Role of Neurotrophins in Major Depressive Disorder. *Transl Neurosci.* 2013; 4(1):46-58.

Johar K, Priya A, Wong-Riley MT. Regulation of Na(p)/K(p)-ATPase by neuron-specific transcription factor Sp4: implication in the tight coupling of energy production, neuronal activity and energy consumption in neurons. *Eur J Neurosci.* 2014; 39(4):566-78.

Jornada LK, Moretti M, Valvassori SS, Ferreira CL, Padilha PT, Arent CO, Fries GR, Kapczinski F, Quevedo J. Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain. *J Psychiatr Res.* 2010; 44(8):506-10.

Jornada LK, Valvassori SS, Steckert AV, Moretti M, Mina F, Ferreira CL, Arent CO, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Lithium and valproate modulate

antioxidant enzymes and prevent ouabain-induced oxidative damage in an animal model of mania. *J Psychiatr Res.* 2011; 45:162-168.

Jun C, Choi Y, Lim SM, Bae S, Hong YS, Kim JE, Lyoo IK. Disturbance of the glutamatergic system in mood disorders. *Exp Neurobiol.* 2014; 23(1):28-35.

Kang H, Schuman EM. Long-lasting neurotrophin-induced enhancement of synaptic transmission in the adult hippocampus. *Science.* 1995; 267(5204):1658-62.

Kapczinski F, Quevedo J. *Transtorno bipolar: teoria e clínica.* 1ªed. Porto Alegre: Artmed; 2009.

Kaplan GB, Moore KA. The use of cognitive enhancers in animal models of fear extinction. *Pharmacol Biochem Behav.* 2011; 99(2):217-28.

Kazantsev AG, Thompson LM. Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov.* 2008; 7(10):854-68.

Keck PE, McElroy SL. Carbamazepine and valproate in the maintenance treatment of bipolar disorder. *J Clin Psychiatry.* 2002;10:13-7.

Kessler RC, Birnbaum HG, Shahly V, Bromet E, Hwang I, McLaughlin KA, Sampson N, Andrade LH, de Girolamo G, Demyttenaere K, Haro JM, Karam AN, Kostyuchenko S, Kovess V, Lara C, Levinson D, Matschinger H, Nakane Y, Browne MO, Ormel J, Possada-Villa J, Sagar R, Stein DJ. Age differences in the prevalence and comorbidity of DSM-IV major depressive episodes: results from the WHO World Mental Health Survey Initiative. *Depress Anxiety.* 2010; 27(4):351-64.

Khan S, Ahmad T, Chintan VP, Pushkarbhai PT, Kushwaha S, Jena G. Investigation on dodium valproate induced ferm cell damage, oxidative stress and genotoxicity in male Swiss mice. *Reprod Toxicol.* 2011; 32(4):385-94.

Kim HJ, Leeds P, Chuang DM. The HDAC inhibitor, sodium butyrate, stimulates neurogenesis in the ischemic brain. *J Neurochem.* 2009; 110(4): 1226-40.

Kirino E. Profile of aripiprazole in the treatment of bipolar disorder in children and adolescents. *Adolesc Health Med Ther.* 2014; 5:211-21.

Kleimann A, Kotsiari A, Sperling W, Gröschl M, Heberlein A, Kahl KG, Hillemacher T, Bleich S, Kornhuber J, Frieling H. BDNF serum levels and promoter methylation of BDNF exon I, IV and VI in depressed patients receiving electroconvulsive therapy. *J Neural Transm.* 2014; *In press.*

Klengel T, Binder EB. Gene-environment interactions in major depressive disorder. *Can J Psychiatry.* 2013; 58:76–83.

Koenig AM, Butters MA. Cognition in Late Life Depression: Treatment Considerations. *Curr Treat Options Psychiatry.* 2014; 1(1):1-14.

Korte M, Carroll P, Wolf E, Brem G, Thoenen H, Bonhoeffer T. Hippocampal long term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci.* 1995; 92(19):8856-60.

Kotyuk E, Németh N, Halmi Z, Faludi G, Sasvári-Székely M, Székely A. Association between mood characteristics and polymorphisms of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in patients with depression. *Neuropsychopharmacol Hung.* 2013; 15(2):63-72.

Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell.* 2007; 128:693–705.

Krishnan V, Han MH, Graham DL, Berton O, Renthal W, Russo SJ, Laplant Q, Graham A, Lutter M, Lagace DC, Ghose S, Reister R, Tannous P, Green TA, Neve RL, Chakravarty S, Kumar A, Eisch AJ, Self DW, Lee FS, Tamminga CA, Cooper DC, Gershenfeld HK, Nestler EJ. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell.* 2007; 131:517–22.



Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature*. 2008; 455(7215):894-902.

Kudinova AY, McGeary JE, Knopik VS, Gibb BE. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) polymorphism Moderates the interactive effect of 5-HTTLPR polymorphism and childhood abuse on diagnoses of major depression in women. *Psychiatry Res*. 2014; *In press*.

Le JM, Squarize CH, Castilho RM. Histone modifications: Targeting head and neck cancer stem cells. *World J Stem Cells*. 2014; 6(5):511-25.

Lee B, Shim I, Lee H, Hahm DH. Effect of ginsenoside Re on depression- and anxiety-like behaviors and cognition memory deficit induced by repeated immobilization in rats. *J Microbiol Biotechnol*. 2012; 22(5): 708-20.

Lera-Miguel S, Andrés-Perpiñá S, Fatjó-Vilas M, Fañanás L, Lázaro L. Two-year follow-up of treated adolescents with early-onset bipolar disorder: Changes in neurocognition. *J Affect Disord*. 2014; 172C:48-54.

Levi-Montalcini R, Angeletti PU. Nerve growth factor. *Physiol Rev*. 1968; 48(3):534-69.

Li L, Sun Y, Liu J, Wu X, Chen L, Ma L, Wu P. Histone deacetylase inhibitor sodium butyrate suppresses DNA double strand break repair induced by etoposide more effectively in MCF-7 cells than in HEK293 cells. *BMC Biochem*. 2015; 16(1):2.

Lijffijt M, Rourke ED, Swann AC, Zunta-Soares GB, Soares JC. Illness-course modulates suicidality-related prefrontal gray matter reduction in women with bipolar disorder. *Acta Psychiatr Scand*. 2014; 130(5):374-87.

Lin LF, Doherty DH, Lile JD, Bektresh S, Collins F. GDNF: a glial line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science*. 1993; 260:1130-2.

Liu Q, Zhu HY, Li B, Wang YQ, Yu J, Wu GC. Chronic clomipramine treatment restores hippocampal expression of glial cell line-derived neurotrophic factor in a rat model of depression. *J Affect Disord.* 2012; 141(2-3): 367-72.

Llorente-Berzal A, Fuentes S, Gagliano H, López-Gallardo M, Armario A, Viveros MP, Nadal R. Sex-dependent effects of maternal deprivation and adolescent cannabinoid treatment on adult rat behaviour. *Addict Biol.* 2011; 16(4): 624-37.

Llorente-Berzal A, Mela V, Borcel E, Valero M, López-Gallardo M, Viveros MP, Marco EM. Neurobehavioral and metabolic long-term consequences of neonatal maternal deprivation stress and adolescent olanzapine treatment in male and female rats. *Neuropharmacology.* 2012; 62(3): 1332-41.

Lopes-Borges J, Valvassori SS, Varela RB, Tonin PT, Vieira JS, Gonçalves CL, Streck EL, Quevedo J. Histone deacetylase inhibitors reverse manic-like behaviors and protect the brain from energetic metabolic alterations induced by ouabain. *Pharmacol Biochem Behav.* 2014; 128:89-95.

Lotrich FE, Butters MA, Aizenstein H, Marron MM, Reynolds CF 3rd, Gildengers AG. The relationship between interleukin-1 receptor antagonist and cognitive function in older adults with bipolar disorder. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2014; 29(6):635-44.

Lu J, Frerich JM, Turtzo LC, Li S, Chiang J, Yang C, Wang X, Zhang C, Wu C, Sun Z, Niu G, Zhuang Z, Brady RO, Chen X. Histone deacetylase inhibitors are neuroprotective and preserve NGF-mediated cell survival following traumatic brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(26): 10747-52.

Lund C, Tomlinson M, De Silva M, Fedaku A, Shidhaye R, Jordans M, Petersen I, Bhana A, Kigozi F, Prince M, Thornicroft G, Hanlon C, Kakuma R, McDaid D, Saxena S, Chisholm D, Raja S, Kippen-Wood S, Honkman S, Fairall L, Patel V. PRIME: A programme to reduce the

treatment gap for mental disorders in five low- and middle-income countries. *PLOS Medicine*. 2012; 9:1-6.

Machado-Vieira R, Ibrahim L, Zarate Jr CA. Histone Deacetylases and Mood Disorders: Epigenetic Programming in Gene-Environment Interactions. *CNS Neurosci Ther*. 2011; 17(6):699-704.

Mackala SA, Torres IJ, Kozicky J, Michalak EE, Yatham LN, Cognitive performance and quality of life early in the course of bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2014; 168:119-24.

Maletic V, Raison C. Integrated neurobiology of bipolar disorder. *Front Psychiatry*. 2014; 5:98.

Malvaez M, Sanchis-Segura C, Vo D, Lattal KM, Wood MA. Modulation of chromatin modification facilitates extinction of cocaine-induced conditioned place preference. *Biol Psychiatry*. 2010; 67(1):36-3.

Manji HK, Moore GJ, Chen G. Lithium up-regulates the cytoprotective protein Bcl-2 in the CNS in vivo: a role for neurotrophic and neuroprotective effects in manic depressive illness. *J Clin Psychiatry*. 2000; 9:82-96.

Marazziti D, Consoli G, Picchetti M, Carlini M, Faravelli L. Cognitive impairment in major depression. *Eur J Pharmacol*. 2010; 626(1):83-6.

Marco EM, Valero M, de la Serna O, Aisa B, Borcel E, Ramirez MJ, Viveros MP. Maternal deprivation effects on brain plasticity and recognition memory in adolescent male and female rats. *Neuropharmacology*. 2013; 68: 223-31.

Marks P, Rifkind RA; Richon VM; Breslow R; Miller T; Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nature Reviews Cancer*. 2001; 1:194-202.

- Martin JL, Magistretti PJ, Allaman I. Regulation of neurotrophic factors and energy metabolism by antidepressants in astrocytes. *Curr Drug Targets*. 2013; 14(11): 1308-21.
- Martínez-Arán A, Vieta E, Colom F, Reinares M, Benabarre A, Gastó C, Salamero M. Cognitive dysfunctions in bipolar disorder: evidence of neuropsychological disturbances. *Psychother Psychosom*. 2000; 69:2-18.
- Martínez-Arán A, Vieta E, Colom F, Torrent C, Sanchez-Moreno J, Reinares M. Cognitive impairment in euthymic bipolar patients: implications for clinical and functional outcome. *Bipolar Disord*. 2004; 6:224-6.
- McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci*. 1999; 22:295-318.
- McCarren M, Alger BE. Sodium-potassium pump inhibitors increase neuronal excitability in the rat hippocampal slice: role of a Ca<sup>2+</sup>-dependent conductance. *J Neurophysiol*. 1989; 57:496-509.
- McIntyre RS, Cha DS, Soczynska JK, Woldeyohannes HO, Gallagher LA, Kudlow P, Alsuwaidan M, Baskaran A. Cognitive deficits and functional outcomes in major depressive disorder: determinants, substrates, and treatment interventions. *Depress Anxiety*. 2013; 30(6): 515-27.
- Moris G, Vega JA. Neurotrophic factors: basis for their clinical application. *Neurologia*. 2003; 18(1):18-28.
- Martino M, Rocchi G, Escelsior A, Contini P, Colicchio S, de Berardis D, Amore M, Fornaro P, Fornaro M. NGF serum levels variations in major depressed patients receiving duloxetine. *Psychoneuroendocrinology*. 2013; 38(9):1824-8.
- Matosin N, Fernandez-Enright F, Frank E, Deng C, Wong J, Huang XF, Newell KA. Metabotropic glutamate receptor mGluR2/3 and mGluR5 binding in the anterior cingulate cortex in psychotic and nonpsychotic

depression, bipolar disorder and schizophrenia: implications for novel mGluR-based therapeutics. *J Psychiatry Neurosci*. 2014; 39(6):407-16.

Meaney MJ. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annu Rev Neurosci*. 2001; 24:1161–1192.

Mello PB, Benetti F, Cammarota M, Izquierdo I. Physical exercise can reverse the deficit in fear memory induced by maternal deprivation. *Neurobiol Learn Mem*. 2009; 92(3): 364-9.

McClung CA, Nestler EJ. Neuroplasticity mediated by altered gene expression. *Neuropsychopharmacology*. 2008; 33(1):3-17.

McDonald C, Murray RM. Early and late environmental risk factors for schizophrenia. *Brain Res Rev*. 2000; 31:130–137.

McGonigle P. Animal models of CNS disorders. *Biochem Pharmacol*. 2014; 87(1):140-9.

McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: challenges in enabling translation. *Biochem Pharmacol*. 2014; 87(1):162-71.

Miskowiak KW, Carvalho AF. Hot' Cognition in Major Depressive Disorder: a Systematic Review. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2014; *In press*.

Moretti M, Valvassori SS, Varella RB, Ferreira CL, Rochi N, Benedet J, Scaini G, Kapczinski F, Streck EL, Zugno AL, Quevedo J. Behavioral and neurochemical effects of sodium butyrate in an animal model of mania. *Behav Pharmacol*. 2011; 22(8):766-72.

Morgan VA, Leonard H, Bourke J, Jablensky A. Intellectual disability co-occurring with schizophrenia and other psychiatric illness: population-based study. *Br J Psychiatry*. 2008; 193: 364-72.

- Morita K, Gotohda T, Arimochi H, Lee MS, Her S. Histone deacetylase inhibitors promote neurosteroid-mediated cell differentiation and enhance serotonin-stimulated brain-derived neurotrophic factor gene expression in rat C6 glioma cells. *J Neurosci Res.* 2009; 87(11):2608-14.
- Morita K, Her S. Progesterone pretreatment enhances serotonin-stimulated BDNF gene expression in rat c6 glioma cells through production of 5 $\alpha$ -reduced neurosteroids. *J Mol Neurosci.* 2008; 34(3):193-200.
- Moseley AE, Williams MT, Schaefer TL, Bohanan CS, Neumann JC, Behbehani MM. Deficiency in Na,K-ATPase alpha isoform genes alters spatial learning, motor activity, and anxiety in mice. *J Neurosci.* 2007; 27(3):616-26.
- Mulinari S. Monoamine theories of depression: historical impact on biomedical research. *J Hist Neurosci.* 2012; 21(4):366-92.
- Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 1997; 349:1436-42.
- Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci.* 2010; 13(10):1161-9.
- Numakawa T, Richards M, Nakajima S, Adachi N, Furuta M, Odaka H, Kunugi H. The role of brain-derived neurotrophic factor in comorbid depression: possible linkage with steroid hormones, cytokines, and nutrition. *Front Psychiatry.* 2014; 5:e136.
- Oher FJ, Demjaha A, Jackson D, Morgan C, Dazzan P, Morgan K, Boydell J, Doody GA, Murray RM, Bentall RP, Jones PB, Kirkbride JB. The effect of the environment on symptom dimensions in the first episode of psychosis: a multilevel study. *Psychol Med.* 2014; 21:1–12.
- Omata N, Mizuno T, Mitsuya H, Wada Y. Multiaxial evaluation of the pathophysiology of mood disorder and therapeutic mechanisms of clinical

drugs by neuronal plasticity and neuronal load. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*. 2013; 33(5-6):231-6.

Ornoy, A. Valproic acid in pregnancy: how much are we endangering the embryo and fetus? *Reprod Toxicol*. 2009; 28:1-10.

Otsuki K, Uchida S, Hobara T, Yamagata H, Watanabe Y. Epigenetic regulation in depression. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*. 2012; 32(4):181-6.

Otten M, Meeter M. Hippocampal structure and function in individuals with bipolar disorder: A systematic Review. *J Affect Disord*. 2014; 174C:113-125.

Pascual A, Hidalgo-Figueroa M, Piruat JL, Pintado CO, Gomez-Diaz R, Lopez-Barneo J. Absolute requirement of GDNF for adult catecholaminergic neuron survival. *Nat Neurosci*. 2008; 11:755-61.

Patestas MA, Gartner LP. "Limbic system". In: *A textbook of neuroanatomy*. 1<sup>st</sup>ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2006. 344-359.

Peedicayil J. Epigenetic approaches for bipolar disorder drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*. 2014; 9(8):917-30.

Peña CJ, Bagot RC, Labonté B, Nestler EJ. Epigenetic signaling in psychiatric disorders. *J Mol Biol*. 2014; 426(20):3389-412.

Pinheiro RM, de Lima MN, Fries GR, Garcia VA, Presti-Torres L, Hallmenschlager LH, Alcalde LA, Roesler R, Andersen ML, Quevedo J, Kapczinski F, Schöder N. Early life stress exacerbates cognitive dysfunction induced by d-amphetamine: amelioration by valproic acid. *J Neural Transm*. 2012; 119(6): 627-37.

Pizzorusso T, Ratto GM, Putignano E, Maffei L. Brain-derived neurotrophic factor causes cAMP response element-binding protein phosphorylation in absence of calcium increases in slices and cultured neurons from rat visual cortex. *J Neurosci*. 2000; 20(8):2809-16.

Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977; 266(5604): 730-2.

Quevedo J, da Silva AG. *Depressão: Teoria e Clínica*. 1ªed. São Paulo: Artmed; 2013.

Rahn EJ, Guzman-Karlsson MC, David Sweatt J. Cellular, molecular, and epigenetic mechanisms in non-associative conditioning: implications for pain and memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2013; 105: 133-50.

Raust A, Daban C, Cochet B, Henry C, Bellivier F, Scott J. Neurocognitive performance as an endophenotype for bipolar disorder. *Front Biosci*. 2014; 6:89-103.

Rej S, Butters MA, Aizenstein HJ, Begley A, Tsay J, Reynolds CF 3rd, Mulsant BH, Gildengers A. Neuroimaging and neurocognitive abnormalities associated with bipolar disorder in old age. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2014; 29(4):421-7.

Resende WR, Valvassori SS, Réus GZ, et al. Effects of sodium butyrate in animal models of mania and depression: implications as a new mood stabilizer. *Behav Pharmacol*. 2013; *In press*.

Réus GZ, Stringari RB, Ribeiro KF, Cipriano AL, Panizzutti BS, Stertz L, Lersch C, Kapczinski F, Quevedo J. Maternal deprivation induces depressive-like behaviour and alters neurotrophin levels in the rat brain. *Neurochem Res*. 2011; 36:460-6.

Riccio A, Ahn S, Davenport CM, Blendy JA, Ginty DD. Mediation by a CREB family transcription factor of NGF-dependent survival of sympathetic neurons. *Science*. 1999; 286(5448):2358-61.

Riggs MG, Whittaker RG, Neumann JR, Ingram VM. n-Butyrate causes histone modification in HeLa and Friend erythroleukaemia cells. *Nature*. 1977; 268(5619):462-4.



Rizzo LB, Costa LG, Mansur RB, Swardfager W, Belangero SI, Grassi-Oliveira R, McIntyre RS, Bauer ME, Brietzke E. The theory of bipolar disorder as an illness of accelerated aging: implications for clinical care and research. *Neurosci Biobehav*. 2014; 42:157-69.

Rodríguez L, de la Vega I, Torrijos S, Barabash A, Ancín I, Peláez JC, López-lbor JJ, Calabrese JA. A study of verbal memory in a sample of euthymic patients with bipolar disorder. *Actas Esp Psiquiatr*. 2012;40:257-65.

Rodríguez-Cano E, Sarró S, Monté GC, Maristany T, Salvador R, McKenna PJ, Pomarol-Clotet E. Evidence for structural and functional abnormality in the subgenual anterior cingulate cortex in major depressive disorder. *Psychol Med*. 2014; 44(15):3263-73.

Ruedi-Bettschen D, Zhang W, Russig H, Fergert B, Weston A, Pedersen EM, Feldon J, Pryce CR. Early deprivation leads to altered behavioural, autonomic and endocrine responses to environmental challenge in adult Fischer rats. *Eur J Neurosci*. 2006; 24:2879-93.

Sajatovic M, Forester BP, Gildengers A, Mulsant BH. Aging changes and medical complexity in late-life bipolar disorder: emerging research findings that may help advance care. *Neuropsychiatry (London)*. 2013; 3(6):621-633.

Sanacora G, Zarate CA, Krystal JH, Manji HK. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov*. 2008; 7:426-437.

Savitz J, Dantzer R, Wurfel BE, Victor TA, Ford BN, Bodurka J, Bellgowan PS, Teague TK, Drevets WC. Neuroprotective kynurenine metabolite indices are abnormally reduced and positively associated with hippocampal and amygdalar volume in bipolar disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2014a; 52C:200-211.

Savitz JB, Price JL, Drevets WC. Neuropathological and neuromorphometric abnormalities in bipolar disorder: view from the

- medial prefrontal cortical network. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014b; 42:132-47.
- Schneider B, Prvulovic D. Novel biomarkers in major depression. *Curr Opin Psychiatry.* 2013; 26(1):47-53.
- Schroeder FA, Lin CL, Crusio WE, Akbarian S. Antidepressant-like effects of the histone deacetylase inhibitor, sodium butyrate, in the mouse. *Biol Psychiatry.* 2007; 62:55-64.
- Schwartz S, Ast G. Chromatin density and splicing destiny: on the cross-talk between chromatin structure and splicing. *EMBO J.* 2010; 29(10):1629–1636.
- Sealy L, Chalkey R. The effect of sodium butyrate on histone modification. *Cell.* 1978; 14:115-121.
- Sengupta N, Seto E. Regulation of histone deacetylase activities. *J Cell Biochem.* 2004; 93:57-7.
- Shin H, Lee YS, Lee YC. Sodium butyrate-induced DAPK-mediated apoptosis in human gastric cancer cells. *Oncol Rep.* 2012; 27(4):1111-5.
- Shirayama Y, Chen AC, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci.* 2002; 22(8):3251-61.
- Sierksma AS, van den Hove DL, Steinbusch HW, Prickaerts J. Major depression, cognitive dysfunction and Alzheimer's disease: is there a link?. *Eur J Pharmacol.* 2010; 626(1):72-82.
- Sivakumar PT, Kalmady SV, Venkatasubramanian G, Bharath S, Reddy NN, Rao NP, Kovoor JM, Jain S, Varghese M. Volumetric analysis of hippocampal sub-regions in late onset depression: A 3 tesla magnetic resonance imaging study. *Asian J Psychiatr.* 2014; *In press.*

Soeiro-de-Souza MG, Dias VV, Figueira ML, Forlenza OV, Gaaz WF, Zarate CA Jr, Machado-Vieira R. Translating neurotrophic and cellular plasticity: from pathophysiology to improved therapeutics for bipolar disorder. *Acta Psychiatr Scand.* 2012; 126(5): 332-41.

Sohrabji F, Lewis DK. EstrogeneBDNF interactions: implications for neurodegenerative diseases. *Front Neuroendocrinol.* 2006; 27:404-14.

Sorensen HJ, Nielsen PR, Pedersen CB, Benros ME, Nordentoft M, Mortensen PB. Population impact of familial and environmental risk factors for schizophrenia: a nationwide study. *Schizophr Res.* 2014; 153:214–219.

Stankiewicz AM, Swiergiel AH, Lisowski P. Epigenetics of stress adaptations in the brain. *Brain Res Bull.* 2013; 98C:76–92.

Steckert AV, Valvassori SS, Varella RB, Mina F, Resende WR, Bavaresco DV, Ornell F, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Effects of sodium butyrate on oxidative stress and behavioral changes induced by administration of D-AMPH. *Neurochem Int.* 2013; 62(4):425-32.

Stertz L, Fries GR, Aguiar BW, Pfaffenseller B, Valvassori SS, Gubert C, Ferreira CL, Moreti M, Ceresér KM, Kauer-Sant'Anna M. Histone deacetylase activity and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in a pharmacological model of mania. *Rev Bras Psiquiatr.* 2014; 36(1):39-46.

Subramaniam M, Abdin E, Vaingankar JA, Nan L, Heng D, McCrone P, Chong SA. Impact of psychiatric disorders and chronic physical conditions on health-related quality of life: Singapore Mental Health Study. *J Affect Disord.* 2013; 147(1-3):325-30.

Sui L, Song XJ, Ren J, Ju LH, Wang Y. Intracerebroventricular administration of ouabain alters synaptic plasticity and dopamine release in rat medial prefrontal cortex. *J Neural Transm.* 2013; 120(8):1191-9.

Sun H, Zhao H, Ma C, Bao F, Zhang J, Wang DH, Zhang YX, He W. Effects of electroacupuncture on depression and the production of glial cell line-derived neurotrophic factor compared with fluoxetine: a randomized controlled pilot study. *J Altern Complement Med.* 2013; 19(9):733-9.

Tamashiro KL, Moran TH. Perinatal environment and its influences on metabolic programming of offspring. *Physiol Behav.* 2010; 100:560–566.

Ten Doesschate F, van Eijndhoven P, Tendolkar I, van Wingen GA, van Waarde JA. Pre-treatment amygdala volume predicts electroconvulsive therapy response. *Front Psychiatry.* 2014; 5:169.

Tomac A, Widenfalk J, Lin LF, Kohne T, Ebendal T, Hoffer BJ, Olson L. Retrograde axonal transport of glial cell line-derived neurotrophic factor in the adult nigrostriatal system suggest a trophic role in the adult. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92:8274-8.

Tomey K, Greendale GA, Kravitz HM, Bromberger JT, Burns JW, Dugan SA, de Leon CF. Associations between aspects of pain and cognitive performance and the contribution of depressive symptoms in mid-life women: A cross-sectional analysis. *Maturitas.* 2014; 80(1):106-12.

Torrent C, Martínez-Arán A, del Mar Bonnin C, Reinares M, Daban C, Solé B, Rosa AR, Tabarés-Seisdedos R, Popovic D, Salamero M, Vieta E. Long-term outcome of cognitive impairment in bipolar disorder. *J Clin Psychiatry.* 2012; 73:e899-905.

Treadway MT, Waskom ML, Dillon DG, Holmes AJ, Park MT, Chakravarty MM, Dutra SJ, Polli FE, Iosifescu DV, Fava M, Gabrieli JD, Pizzagalli DA. Illness Progression, Recent Stress, and Morphometry of Hippocampal Subfields and Medial Prefrontal Cortex in Major Depression. *Biol Psychiatry.* 2014; 77(3):285-94.

Tsankova NM, Berton O, Renthal W, Kumar A, Neve RL, Nestler EJ. Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci.* 2006; 9:519-25.

Tsankova NM, Renthal W, Kumar A, Nestler EJ. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2007; 8(5):355-67.

Vaillend C, Mason SE, Cuttle MF, Alger BE. Mechanisms of neuronal hyperexcitability caused by partial inhibition of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPases in the rat CA1 hippocampal region. *J Neurophysiol*. 2002; 88(6):2963-78.

Valvassori SS. Consolidação de um modelo animal de transtorno bipolar induzido pela administração intracerebroventricular de ouabaína em ratos [Tese de Doutorado]. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Criciúma: Universidade do Extremo Sul Catarinense; 2014.

Valvassori SS, Varela RB, Arent CO, Dal-Pont GC, Bobsin TS, Budni J, Reus GZ, Quevedo J. Sodium butyrate functions as an antidepressant and improves cognition with enhanced neurotrophic expression in models of maternal deprivation and chronic mild stress. *Curr Neurovasc Res*. 2014; 11(4):359-66.

Valvassori SS, Budni J, Varela RB, Quevedo J. Contributions of animal models to the study of mood Disorders. *Rev Bras Psiquiatr*. 2013; 25:S121-31.

Varela RB, Valvassori SS, Lopes-Borges J, Mariot E, Dal-pont GC, Amboni RT, Bianchini G, Quevedo J. Sodium butyrate and mood stabilizers block ouabain-induced hyperlocomotion and increase BDNF, NGF and GDNF levels in brain of Wistar rats. *J Psychiatr Res*. 2014; *In press*.

Vatta M, Peña C, Fernandez BE, Rodríguez de Lores Arnaiz G. Endobain E, a brain Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> -ATPase inhibitor, decreases norepinephrine uptake in rat hypothalamus. *Life Sci*. 2004; 10;76(4):359-65.

Vazquez V, Farley S, Giros B, Daugé V. Maternal deprivation increases behavioural reactivity to stressful situations in adulthood: suppression by the CCK2 antagonist L365,260. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005; 181(4):706-13.

Verrotti A, Loiacono G, Laus M, Coppola G, Chiarelli F, Tiboni GM. Hormonal and reproductive disturbances in epileptic male patients: emerging issues. *Reprod Toxicol.* 2011; 31:519-27.

Veselinovic T, Paulzen M, Gründer G. Cariprazine, a new, orally active dopamine D2/3 receptor partial agonist for the treatment of schizophrenia, bipolar mania and depression. *Expert Rev Neurother.* 2013; 13(11):1141-59.

Wallace DL, Han MH, Graham DL, Green TA, Vialou V, Iñiguez SD, Cao JL, Kirk A, Chakravarty S, Kumar A, Krishnan V, Neve RL, Cooper DC, Bolaños CA, Barrot M, McClung CA, Nestler EJ. CREB regulation of nucleus accumbens excitability mediates social isolation-induced behavioral deficits. *Nat Neurosci.* 2009; 12:200–209.

Walz JC, Frey BN, Andreazza AC, Cereser KM, Cacilhas AA, Valvassori SS, Quevedo J, Kapczinski F. Effects of lithium and valproate on serum and hippocampal neurotrophin-3 levels in an animal model of mania. *J Psychiatr Res.* 2008; 42(5):416-21.

Wang X, Hou Z, Yuan Y, Hou G, Liu Y, Li H, Zhang Z. Association study between plasma GDNF and cognitive function in late-onset depression. *J Affect Disord.* 2011; 132(3):418-21.

Weisenbach SL1, Marshall D, Weldon AL, Ryan KA, Vederman AC, Kamali M, Zubieta JK, McInnis MG, Langenecker SA. The double burden of age and disease on cognition and quality of life in bipolar disorder. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2014; 29(9):952-61.

Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology.* 2005; 52(2): 90-110.

Wu X, Chen PS, Dallas S, Wilson B, Block ML, Wang CC, Kinyamu H, Lu N, Gao X, Leng Y, Chuang DM, Zhang W, Lu RB, Hong JS. Histone deacetylase inhibitors upregulate astrocyte GDNF and BDNF gene

transcription and protect dopaminergic neurons. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008; 11(8): 1123-34.

Yan HC, Cao X, Gao TM, Zhu XH. Promoting adult hippocampal neurogenesis: a novel strategy for antidepressant drug screening. *Curr Med Chem.* 2011; 18(28):4359-67.

Yasuda S, Liang MH, Marinova Z, Yahyavi A, Chuang DM. The mood stabilizers lithium and valproate selectively activate the promoter IV of brain-derived neurotrophic factor in neurons. *Mol Psychiatry.* 2009; 14:51-9.

Young JW, Henry BL, Geyer MA. Predictive animal models of mania: hits, misses and future directions. *Br J Pharmacol.* 2011; 164(4):1263-84.

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

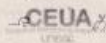
Zhang ZH, Wu LN, Song JG, Li WQ. Correlations between cognitive impairment and brain derived neurotrophic factor expression in the hippocampus of post-stroke depression rats. *Mol Med Rep.* 2012; 6(4):889-93.

Zhang X, Ru B, Sha W, Xin W, Zhou H, Zhang Y. Performance on the Wisconsin card-sorting test and serum levels of glial cell line-derived neurotrophic factor in patients with major depressive disorder. *Asia Pac Psychiatry.* 2014; 6(3):302-7.

Zhu H, Huang Q, Xu H, Niu L, Zhou JN. Antidepressant-like effects of sodium butyrate in combination with estrogen in rat forced swimming test: involvement of 5-HT(1A) receptors. *Behav Brain Res.* 2009; 196(2):200-206.

**ANEXO A** – Paracer de aprovação do projeto pela comissão de  
ética em uso de animais da UNESC (CEUA).





**Resolução**

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

**Protocolo: 102/2012**

**Professor Responsável:** João Quevedo

**Equipe:** Roger Varela, Daniela Bavaresco, Samira Valvassori, Juliane Carvalho, Leticia Calegari, Gustavo Dal Pont, Camila Arent e Wilson Resende.

**Título:** 'AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIDEPRESSIVOS E ANTIMANIACOS DO BUTIRATO DE SÓDIO EM MODELOS ANIMAIS DE MANIA E DEPRESSÃO: IMPLICAÇÕES PARA A VALIDAÇÃO DE UM NOVO ESTABILIZADOR DE HUMOR'

Este projeto foi **Aprovado** em seus aspectos éticos e metodológicos. Toda e qualquer alteração do Projeto deverá ser comunicada a CEUA. Foi autorizada a utilização 424 ratos wistar e 80 camundongos b616 C57BL/6. Os membros da CEUA não participaram do processo de avaliação dos projetos em que constam como pesquisadores. Para demais dúvidas, contatar a CEUA pelo e-mail [ceua@unesp.net](mailto:ceua@unesp.net).

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

**Protocol number: 102/2012**

**Principal Investigator:** João Quevedo

**Researchers:** Roger Varela, Daniela Bavaresco, Samira Valvassori, Juliane Carvalho, Leticia Calegari, Gustavo Dal Pont, Camila Arent e Wilson Resende.

**Project title:** 'ANTIDEPRESSANTS AND EVALUATION OF THE EFFECTS OF ANTIMANIC SODIUM BUTYRATE IN ANIMAL MODELS OF DEPRESSION AND MANIA: IMPLICATIONS FOR THE VALIDATION OF A NEW MOOD STABILIZER'.

The project was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on [www.unesp.net/propex/ceua](http://www.unesp.net/propex/ceua) or by e-mail: [ceua@unesp.net](mailto:ceua@unesp.net).

Criciúma, 09 de outubro de 2012.

*Patricia Fernanda Schuck*

Coordenadora da CEUA