

**ADMINISTRAÇÃO DE ÔMEGA-3 PREVINE E REVERTE O DANO
OXIDATIVO EM MODELO ANIMAL DE MANIA INDUZIDO POR
FEMPROPOREX**

*Administration of omega-3 prevents and reverses oxidative damage in an
animal model of mania induced femproporex*

Lara Mezari Gomes^{1,2,3}, Gabriela Kozuchovski Ferreira^{1,2,3}, Milena Carvalho-
Silva^{1,2,3}, Amanda Steckert^{2,3,4}, Samira Valvassori^{2,3,4}, João Quevedo^{2,3,4}, Emilio
Luiz Streck^{1,2,3}

¹Laboratório de Bioenergética, Programa de Pós-graduação em Ciências da
Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil;

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Translacional em Medicina;

³Center of Excellence in Applied Neuroscience of Santa Catarina (NENASC);

⁴Laboratório de Neurociências, Programa de Pós-graduação em Ciências da
Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil;

Título corrido: Ômega-3 e femproporex

Correspondente:

Prof. Emilio Luiz Streck
Laboratório de Bioenergética
Universidade do Extremo Sul Catarinense
88806-000 – Criciúma - SC, Brasil
Fax: +55 48 3341 2644
E-mail: emiliostreck@gmail.com

Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), Fundação de
Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica do Estado de Santa Catarina
(FAPESC) e Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

Resumo

Sabendo que estudos anteriores demonstraram que o dano oxidativo está relacionado com a fisiopatologia do transtorno bipolar e que o ômega-3 possui propriedades antioxidantes, este estudo propõe avaliar o efeito comportamental e neuroquímico do ômega-3, em protocolo de prevenção e reversão, no cérebro de ratos submetidos a um modelo de mania pelo femproporex. Foram utilizados 120 ratos adultos machos Wistar que foram divididos em grupos tween + salina, femproporex + salina, tween + ômega-3 e femproporex + ômega-3 (reversão) e ômega + femproporex (prevenção). Foi realizada administração intraperitoneal de femproporex (12,5 mg/kg) ou tween, durante 14 dias de tratamento. No protocolo de prevenção os animais receberam ômega-3 (0,8 g/kg) ou salina por gavagem sete dias antes da administração de femproporex e no protocolo de reversão os animais receberam ômega-3 após sete dias da administração de femproporex. Nossos resultados demonstraram que a administração de femproporex induziu aumento do número de cruzamentos e o ômega-3 foi capaz de prevenir esta alteração, porém não reverteu. Já na atividade exploratória destes animais não houve alteração. Por conseguinte, nós demonstramos que o ômega-3 preveniu e reverteu o dano oxidativo a proteínas e peroxidação lipídica em cérebro de ratos após a indução de mania por femproporex. Nossos resultados mostram significantes danos oxidativos e que este foi prevenido e revertido pela administração de ômega-3.

Palavras chaves: transtorno bipolar; mania; dano oxidativo.

Abstract

Knowing that previous studies have shown that oxidative damage is related to the pathophysiology of bipolar disorder and that omega-3 has antioxidant properties, this study is to assess the behavioral and neurochemical effects of omega-3 in the prevention and reversal protocol, in the brain of rats submitted to a model of mania by femproporex. A total of 120 adult male Wistar rats were divided into groups tween + saline, saline + femproporex, tween + omega-3 and femproporex + omega-3 (reversal) and omega + femproporex (prevention). Intraperitoneal administration was done for femproporex (12,5 mg/kg) or Tween

14 days of treatment. In the prevention protocol, the animals received omega-3 (0,8 g/kg) or saline by gavage seven days before the administration of femproporex and reversal protocol animals received omega-3 after seven days of administration femproporex. Our results demonstrated that administration of femproporex induced increase of number of crossings and the omega-3 was able to prevent this change, but not reversed. Already on exploratory activity of the animals showed no changes. Therefore, we have demonstrated that omega-3 prevented and reversed the damage oxidative protein and lipid peroxidation in rat brain after induction of mania by femproporex. Our results show significant oxidative damage and that this was prevented and reversed by the administration of omega-3.

Keywords: bipolar disorder, manic, oxidative damage.

INTRODUÇÃO

A bipolaridade é um transtorno psiquiátrico crônico e complexo, caracterizada por episódios de alternância de humor. Afeta uma grande parcela da população no mundo inteiro, incluindo crianças, adolescentes e adultos (Soreca et al., 2009). O transtorno se manifesta em episódios intercalados entre depressão, eutímia, hipomania e mania. Essas fases do transtorno muitas vezes vêm acompanhadas de agitação, insônia, sintomas psicóticos e pensamento suicida (Bowden, 2008).

Na fase depressiva da doença, o paciente tende a apresentar humor deprimido, com perda do interesse e do sentimento de prazer no desenvolvimento de atividades, a anedonia. Além disso, pode apresentar alterações de peso e no tempo de sono, sentimento de culpa, dificuldade para pensar e se concentrar ou tomar decisões, pensamento de morte ou ideação suicida o que, muitas vezes, acaba no suicídio propriamente dito (Kaplan e Sadock, 1999).

A eutímia, usualmente, é definida como a remissão dos sintomas, entretanto seria, idealmente, o período no qual o paciente não apenas estaria sem sintomas, mas também reintegrado funcionalmente em suas atividades de rotina (Fagiolini et al., 2003). Na fase hipomaníaca, o paciente começa a

apresentar sintomas eufóricos acentuados, diminuição da necessidade de sono, inquietação e leve irritabilidade (Bowden, 2008).

No episódio maníaco, ocorre uma elevação do humor deixando o paciente extremamente agitado, expansivo e irritável. Este tende a apresentar uma auto-estima grandiosa, pouca necessidade de sono, pressão para falar, fuga de ideias, agitação psicomotora, energia abundante e facilidade em se distrair. Além disso, muitas vezes há o envolvimento excessivo em atividades prazerosas, tais como o envolvimento em surtos incontidos de compras (Frey et al., 2006c).

Os pacientes com transtorno bipolar geralmente têm recidivas, e estas costumam aparecer aproximadamente em um prazo de 12 meses após seu último episódio de humor alterado. As recidivas ocorrem na maioria dos pacientes, mesmo na vigência de uma terapia adequada, sugerindo que novos alvos terapêuticos são necessários no manejo desta doença e que estes favoreçam a adesão ao tratamento por parte dos pacientes (Nierenberg et al., 2012). É fundamental que sejam desenvolvidas novas alternativas terapêuticas do transtorno bipolar e, para isso, é importante entender melhor sobre a fisiopatologia desta doença (Shaltiel et al., 2007).

Inúmeras pesquisas vêm sendo feitas na última década, na tentativa de explicar a fisiopatologia da doença. Hipóteses atuais sugerem que alterações nos circuitos cerebrais associados à regulação do humor estão envolvidas no transtorno bipolar, principalmente quanto à transmissão serotoninérgica, glutamatérgica e principalmente dopaminérgica (Balanzá-Martínez et al., 2011). Diante disto, o femproporex pode ser utilizado para induzir mania, visto que ele age bloqueando a recaptação de noradrenalina e dopamina, ocasionando sintomas maníacos. Estes dados vão ao encontro com Rezin e colaboradores (2011), onde demonstraram que a administração de femproporex em ratos adultos reproduziu sintomas de hiperatividade, sugerindo então o uso deste fármaco para indução de modelo animal de mania.

Atualmente, a terapia para este transtorno consiste no uso de estabilizadores de humor, como o carbonato de lítio. O carbonato de lítio é estabelecido como um tratamento eficaz nas fases de mania aguda do transtorno bipolar e também na depressão unipolar. Embora o mecanismo específico de ação do lítio não esteja totalmente elucidado, acredita-se que ele

atue alterando o transporte do sódio nos neurônios e células musculares, estabilizando a neurotransmissão. Evidências também estão delineando um papel neuroprotetor e neurotrófico do lítio. No entanto, seus efeitos primários sobre o funcionamento cognitivo ainda permanecem obscuros (Tsaltas et al., 2009). Na terapia do transtorno bipolar, o lítio ainda pode ser associado a fármacos anticonvulsivantes como o valproato de sódio e carbamazepina. Novas alternativas terapêuticas, como no caso da lamotrigina, já vem sendo prescritas e alguns antipsicóticos atípicos, como a olanzapina e a quetiapina, também vêm sendo utilizados, mas seus resultados são questionáveis (Walpoth-Niederwanger et al., 2012).

Estudos apontam a correlação direta entre a fisiopatologia do transtorno bipolar e disfunção mitocondrial, sugerindo que pacientes bipolares possam ter uma diminuição da respiração mitocondrial, alterações na morfologia mitocondrial e mutações em proteínas (Clay et al., 2011; Gigante et al., 2011).

Os organismos necessitam de oxigênio (O_2), mas estes podem ao mesmo tempo serem tóxicos. Nos organismos aeróbicos, o O_2 é necessário para respiração celular, atuando como aceptor final da cadeia de transporte de elétrons, sendo reduzido à água. O elemento O_2 apresenta como característica a presença de dois elétrons não pareados com spins paralelos, assim, necessita de quatro elétrons para ser reduzido a duas moléculas de água. Porém, a estrutura eletrônica do O_2 permite uma redução em passos, ou seja, um elétron de cada vez, acarretando em uma reação sujeita a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Halliwell, 2001).

Kuloglu e colaboradores (2002) demonstraram um aumento de estresse oxidativo e alterações em enzimas antioxidantes em pacientes com transtorno bipolar. Steckert e colaboradores (2010) relataram aumento de produtos de peroxidação lipídica em pacientes bipolares. Sendo assim, sugere-se o tratamento do transtorno bipolar com ômega-3, visto que é um ácido graxo essencial fundamental para o funcionamento do organismo (Pompéia, 2002), além de possuir grande capacidade antioxidante (Mori et al., 2000). Um mecanismo possível é o fato de que o ômega-3 suplementado pode tornar-se alvo das ERO, servindo para estabilizá-las e poupando desta forma lipídios e proteínas endógenas.

Chalon (2006) ressalta a influência dos ácidos graxos ômega-3 em diversos processos do funcionamento cerebral, principalmente neurotransmissão e comportamento. Em seu estudo, animais que receberam uma dieta deficiente de ômega-3 apresentaram diminuição de neurônios dopaminérgicos e serotoninérgicos em algumas regiões cerebrais, salientando o papel do ômega-3 no funcionamento cerebral.

Em estudo de Amminger e colaboradores (2010), verificou-se que uma dieta suplementada com ácidos graxos ômega-3 reduziu o risco de progressão da esquizofrenia em jovens, podendo ser uma opção eficaz para a prevenção de crises psicóticas em pacientes esquizofrênicos, reforçando a eficácia do ômega-3 em pacientes com distúrbios psiquiátricos. Em estudo de Noaghiul e Hibbeln (2003), onde populações de diversos países tinham uma ingestão deficiente de peixes e outros frutos do mar, fontes de ômega-3, foram constatadas maiores taxas de prevalência de transtorno bipolar.

Frente à importância de uma terapia efetiva no transtorno bipolar, são imprescindíveis novos estudos na tentativa de ampliar as alternativas terapêuticas desta doença ainda confusa. Visto que o ômega-3 possui comprovadamente propriedades benéficas no sistema nervoso central, e que pode ser pensado como um possível coadjuvante no tratamento do transtorno bipolar, este estudo propõe avaliar o efeito comportamental e neuroquímico do ômega-3 no cérebro de ratos submetidos a um modelo de mania pelo femproporex.

MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 120 ratos machos da linhagem Wistar (300-350g) com 60 dias de idade, os quais foram obtidos através do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Foram acondicionados em grupos de cinco animais, em um ciclo claro-escuro de 12 horas (luzes acessas às 7:00), a uma temperatura de 22 ± 1 °C, com livre acesso a água e comida. 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 a utilização de animais do Colégio

Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a aprovação do comitê de ética da Universidade do Extremo Sul Catarinense com número de protocolo 39/2013.

Desenho experimental

Tratamento de prevenção: o primeiro tratamento foi delineado a fim de avaliar o efeito preventivo do ômega-3 nos animais submetidos à administração de femproporex durante 14 dias de tratamento. Os animais receberam salina 0,9 % 1mL/kg , ômega-3 na dose de 0,8g /Kg animal, cloridrato de femproporex (Desobesi-M) dissolvido em solvente tween, na dose de 12,5 mg/ Kg por via intraperitoneal. Por tratar-se de um experimento de prevenção, nos primeiros sete dias os animais do grupo femproporex e ômega-3 receberam apenas ômega-3 por gavagem, e somente a partir do sétimo dia foi iniciada a administração de femproporex, seguindo até o décimo quarto dia de tratamento. Grupos de tratamento: tween + salina (15 animais), tween + ômega-3 (15 animais), femproporex + salina (15 animais), ômega + femproporex (15 animais).

Tratamento de reversão: o segundo tratamento foi delineado a fim de avaliar o efeito reversivo do ômega-3 nos animais submetidos à administração de femproporex durante 14 dias de tratamento. Os animais receberam salina 0,9 % 1mL/kg, ômega-3 na dose de 0,8g /Kg animal, cloridrato de femproporex (Desobesi-M) dissolvido em solvente tween, na dose de 12,5 mg/ Kg por via intraperitoneal. Por tratar-se de um experimento de reversão, os animais receberam ômega-3 por gavagem, somente a partir do sétimo dia de tratamento. Grupos de tratamento: salina + tween (15 animais), ômega-3 + tween (15 animais), salina + femproporex (15 animais), femproporex + ômega-3 (15 animais).

Atividade locomotora e exploratória

A atividade locomotora foi medida usando a tarefa de habituação ao campo aberto, executada em uma caixa de 40 x 60 cm cercada por paredes de 50 cm de altura feitas de madeira compensada, com uma parede de vidro frontal e assoalho dividido em 9 retângulos iguais por linhas pretas. Os animais foram colocados delicadamente no quadrante posterior esquerdo, para que

explorem a arena por 5 minutos, onde foram contados os cruzamentos entre as linhas pretas (*''crossings''*) e a quantidade de vezes em que o rato ficou apoiado nas patas traseiras a fim de explorar o ambiente (*''rearings''*) (Vianna et al., 2000).

Posteriormente, os animais foram mortos por decapitação, o cérebro foi removido e as estruturas isoladas. A seguir, o córtex pré-frontal, hipocampo, estriado e córtex cerebral foram homogeneizados em tampões específicos de cada técnica. O homogeneizado obtido foi levado à centrifugação por rotação e tempo, segundo protocolos específicos para cada técnica. O sobrenadante obtido foi separado para as dosagens posteriores.

Dosagens de proteínas

As proteínas foram determinadas pelo método de Lowry (1951) e a albumina sérica bovina foi utilizada como padrão.

Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A peroxidação lipídica foi medida através da avaliação dos níveis de TBARS durante uma reação ácida, aquecida como previamente descrito. Brevemente, as amostras obtidas foram misturadas com 1 mL de ácido tricloroacético 10 % e 1 mL de ácido tiobarbitúrico, fervidas por 30 minutos e após a quantidade de TBARS foi determinada pela absorvância em 532 nm (Draper e Hadley, 1990).

Medida do dano oxidativo em proteínas

O dano oxidativo em proteínas plasmáticas foi determinado pela medida de grupos carbonil conforme previamente descrito. Brevemente, as amostras obtidas foram precipitadas e as proteínas dissolvidas com dinitrofenilidrazina. Logo, foram medidos os grupamentos carbonil pela absorvância em 370 nm (Levine et al., 1994).

Análise estatística

A diferença entre os grupos foi avaliada pela análise de variância de uma-via (para parâmetros de dano oxidativo) e duas-vias (para parâmetro comportamental) (ANOVA). Quando o valor de *F* for significativas comparações

post hoc foram feitas pelo teste de Tukey. Os dados foram expressos pela média + ou - desvio padrão, utilizando o programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences).

RESULTADOS

No presente estudo, avaliou-se o efeito da administração crônica de ômega-3 como proposta de prevenção e/ou reversão do estado maníaco induzido por femproporex sobre parâmetro comportamental por habituação ao campo aberto (*Open-Field Task*), e sobre parâmetro de dano oxidativo por medidas de danos a proteínas (carbonil) e lipídios (TBARS) em cérebro de ratos adultos.

No protocolo de prevenção, nossos resultados demonstraram que, após a indução da mania, houve um aumento no comportamento locomotor dos ratos e o ômega-3 preveniu parcialmente esta alteração, e o estado exploratório dos ratos não houve alteração. Nos animais que receberam tween + ômega-3, houve uma diminuição do comportamento locomotor (Figura 1). No protocolo de reversão, houve um aumento na locomoção dos ratos após indução da mania e o ômega-3 não reverteu essa alteração. O estado exploratório dos ratos não obteve alteração quando avaliado (Figura 2).

Após o teste comportamental dos ratos, foram avaliados parâmetros de dano oxidativo. Nossos resultados demonstraram que, no protocolo de prevenção após a indução da mania, houve um aumento na carbonilação de proteína em córtex cerebral e o ômega-3 conseguiu prevenir este dano em proteína. Os animais que receberam tween + ômega-3 e ômega-3 + femproporex tiveram uma diminuição na carbonilação de proteínas em córtex pré-frontal. Já no hipocampo e estriado, houve uma diminuição na carbonilação de proteínas somente nos animais que receberam ômega-3 + femproporex (Figura 3). Quando avaliado o dano a lipídeos, nossos resultados demonstraram que, após a indução da mania, houve um aumento nos níveis de TBARS no córtex pré-frontal, hipocampo, estriado e córtex cerebral e o ômega-3 preveniu esse dano somente em hipocampo, estriado e córtex cerebral. Nos grupos que receberam tween + ômega-3, houve uma diminuição nos níveis de TBARS no hipocampo, estriado e córtex cerebral (Figura 4).

Já no protocolo de reversão, após a indução da mania, houve um aumento na carbonilação de proteínas em córtex pré-frontal e córtex cerebral, onde o ômega-3 conseguiu reverter este dano. Nos animais que receberam ômega + tween, houve uma diminuição na carbonilação de proteínas em córtex pré-frontal e córtex cerebral. No estriado, houve uma diminuição na carbonilação de proteína nos animais que receberam ômega-3 + tween e femproporex + ômega-3 (Figura 5). Os nossos resultados quanto aos níveis de TBARS, tiveram um aumento no dano a lipídios em córtex pré-frontal, hipocampo, estriado e córtex cerebral e o ômega-3 conseguiu reverter este dano somente no hipocampo e córtex cerebral. Nos animais que receberam ômega-3 + tween, houve uma diminuição nos níveis de TBARS no córtex pré-frontal, hipocampo, estriado e córtex cerebral (Figura 6).

DISCUSSÃO

No presente trabalho, nós avaliamos o efeito do ômega-3 na prevenção e reversão da atividade locomotora e exploratória, bem como sobre parâmetros bioquímicos em animais submetidos ao modelo animal de mania induzida por femproporex. Neste sentido, nós observamos que a administração de femproporex induziu aumento do número de cruzamentos, porém não alterou a atividade exploratória destes animais. Além disso, nós observamos que o ômega-3 foi capaz de prevenir a alteração apresentada no número de cruzamentos, mas não foi capaz de revertê-la. Entretanto, não houve diferença significativa apresentada pelo ômega-3 no protocolo de prevenção e reversão em relação à atividade exploratória. Por conseguinte, nós demonstramos que o ômega-3 preveniu e reverteu o dano oxidativo a proteínas e peroxidação lipídica em cérebro de ratos após a indução de mania por femproporex.

Neste cenário, avanços recentes sobre os mecanismos neurais subjacentes, etiologia, genética e novas abordagens farmacológicas têm facilitado o desenvolvimento de um modelo animal de mania (El-Mallakh et al., 2003; Frey et al., 2006a; Frey et al., 2006b; Frey et al., 2006c; Frey et al., 2006d). Ainda considerando os estudos que mostram alterações dopaminérgicas e locomotoras nos pacientes com transtorno bipolar (Pantazopoulos et al., 2004; Vogel et al., 2004), o femproporex é uma boa

proposta para a indução de mania em animais, visto que o femproporex quando ingerido, é rapidamente convertido à anfetamina no organismo, e esta, por sua vez, causa hiperatividade provavelmente devido ao aumento da dopamina extracelular (Martinez et al., 2003). Além disso, o femproporex age bloqueando a recaptção de noradrenalina e, principalmente, de dopamina (Coutts et al., 1986). Sendo que, a grande atividade dopaminérgica induzida pelo aumento da liberação de dopamina, a redução da capacidade da vesícula sináptica ou a elevada sensibilidade do receptor dopaminérgico estão associados aos sintomas maníacos (Avisar et al., 1988). Assim podemos explicar a alteração locomotora apresentada nos animais submetidos à administração de femproporex.

Por conseguinte, estudos mostram que a dopamina pode levar a produção de espécies reativas de oxigênio, visto que a dopamina sofre dois tipos de oxidação: enzimática, através das enzimas monoamina oxidase (MAO) e catecol-o-metil transferase (COMT), ou não enzimática, também chamada de auto-oxidação. No entanto, quando a dopamina é oxidada na presença da enzima MAO, ela resulta na formação do ácido 3,4 diidroxifenilacético e H_2O_2 , capaz de gerar OH^- . Essa via ocorre especialmente nos gânglios da base (putamen, núcleo caudal e substância nigra) onde existem altas concentrações de dopamina, oxigênio e ferro (Obata, 2002). Além disso, vários estudos pré-clínicos e clínicos indicam presença de dano oxidativo, bem como alteração nos sistemas antioxidantes em modelos animais e pacientes com transtorno bipolar (Frey et al., 2006c; Andreazza et al., 2008; Valvassori et al., 2008; Machado-Vieira et al., 2007).

Diante dos fatos, a complexidade das fases e sintomas do transtorno bipolar torna a farmacoterapia atual insuficiente para o tratamento destes pacientes. Mesmo na vigência do tratamento, os pacientes continuam a ter episódios de humor recorrentes, sintomas residuais, incapacidade funcional, incapacidade psicossocial e comorbidades médicas e psiquiátricas significativas (Zarate et al., 2006). Assim, a busca por novas alternativas terapêuticas se torna constante.

Neste sentido, estudos têm apontado para os efeitos promissores do ômega-3 no tratamento e manutenção do transtorno bipolar (Mori, 2000). Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 estão entre os principais

determinantes das propriedades biofísicas das membranas neuronais e são fundamentais, tanto para a constituição quanto para o bom funcionamento do sistema nervoso central (Tapia-Saavedra, 2005). O ômega-3 pode apresentar-se na forma de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexanóico (DHA), produzidos por algumas espécies de peixes, são os mais relevantes para a saúde mental e mais predominante no cérebro (Bodnar e Wisner, 2005; Mischoulon, 2009). Além disso, a produção de ERO em excesso pode levar a deficiências de DHA no cérebro devido à maior peroxidação lipídica (Mazza et al., 2007). Corroborando com este fato o estudo de Mori e colaboradores (2000) que mostrou o efeito dos ácidos graxos ômega-3 sobre o estresse oxidativo em humanos avaliando a peroxidação lipídica pela análise da excreção urinária de F2-isoprostanos onde demonstrou que os ácidos graxos ômega-3 reduziram o estresse oxidativo *in vivo* em seres humanos.

Além disso, estudo de Wall e colaboradores (2010) também relatou que o DHA participa do desenvolvimento cerebral, e que sua função na membrana lipídica está relacionada com a proteção celular frente ao estresse oxidativo. Ainda, Chalon (2006) ressalta a influência dos ácidos graxos ômega-3 em diversos processos do funcionamento cerebral, principalmente neurotransmissão e comportamento. Em seu estudo, animais que receberam uma dieta deficiente de ômega-3 apresentaram diminuição de neurônios dopaminérgicos e serotoninérgicos em algumas regiões cerebrais, salientando o papel do ômega-3 no funcionamento cerebral. Assim, sugerimos que o ômega-3 preveniu e reverteu o dano oxidativo em cérebros de ratos submetidos ao modelo de mania devido às suas propriedades antioxidantes.

Os ácidos graxos poli-insaturados apresentam insaturações na cadeia hidrocarbônica suscetíveis à ação oxidante das EROs, levando a um processo denominado peroxidação lipídica. Esses ácidos graxos tornam-se suscetíveis ao ataque de EROs, pois, quando ingeridos, podem ser incorporados nas bicamadas lipídicas de diferentes tecidos (Godwin, 2006), isso explica o efeito do ômega-3 sobre a redução da carbonilação de proteína e lipoperoxidação em cérebro de ratos mesmo naqueles que não houve a indução da mania.

Adicionalmente, as principais estruturas cerebrais avaliadas neste estudo estão relacionadas com o sistema límbico por ser o principal centro regulador de emoções no sistema nervoso central. Deste modo, é indiscutível

seu papel na diversidade de sintomas do transtorno bipolar, como a instabilidade afetiva, impulsividade e sintomas psicóticos. Tais sintomas são determinados por diversas estruturas do sistema límbico, como a amígdala, por exemplo, que modula um sistema iterativo córtex pré-frontal-estriado-hipotálamo (Cummings, 1993; Strakowski et al., 2002).

Neste sentido, o hipocampo é um importante componente do sistema límbico, responsável principalmente pela memória e processamento de informações. Alteração e diminuição no hipocampo também foram descrito no transtorno bipolar (Ghribi et al., 2003). Em estudo de Chen e colaboradores (2006), em análise de neuroimagem funcional em cérebros de pacientes bipolares, verificou-se uma ativação anormal no hipocampo durante testes de emoção, atenção e memória com estes pacientes.

Por fim, o transtorno bipolar é marcado por episódios recorrentes de mania e depressão os quais estão acompanhados por alterações nos níveis de catecolaminas, e indolaminas (Machado-Vieira et al., 2004), evidenciando uma provável alteração nos níveis de estresse oxidativo. Assim, nós encontramos significantes danos oxidativos em cérebro de ratos após indução de modelo animal de mania por femproporex e que este dano foi prevenido e revertido pela administração de ômega-3, desta forma este ácido graxo pode ser considerado como uma potencial terapia adjuvante para o episódio de mania devido a sua propriedade antioxidante.

REFERÊNCIAS

- Andreazza AC, Kauer-Sant'Anna M, Frey BN, Stertz L, Zanotto C, Ribeiro L, Giasson K, Valvassori SS, Réus GZ, Salvador M, Quevedo J, Gonçalves CA, Kapczinski F. Effects of mood stabilizers on DNA damage in an animal model of mania. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 2008; 33:516-524.
- Amminger GP, Schäfer MR, Papageorgiou K, Klier CM, Cotton SM, Harrigan SM, Mackinnon A, McGorry PD, Berger GE. Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: a randomized, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry*. 2010; 2:146-154.
- Avisar S, Schreiber G, Danon A, Belmaker RH. Lithium inhibits adrenergic and cholinergic increases in GTP binding in rat cortex. *Nat*. 1988; 331:440-442.
- Balanzá-Martínez V, Fries GR, Colpo GD, Silveira PP, Portella AK, Tabarés-Seisdedos R, Kapczinski F. Therapeutic use of omega-3 fatty acids in bipolar disorder. *Expert Rev Neurother*. 2011; 11:1029-1047.

Bodnar LM, Wisner KL. Nutrition and depression: implications for improving mental health among childbearing-aged women. *Biol Psychiatry*. 2005; 58(9):679-85.

Bowden CL. Bipolar pathophysiology and development of improved treatments. *Brain Res*. 2008; 1235:92-97.

Chalon S. Omega-3 fatty acids and monoamine neurotransmission. *Prostag. Leukot Essent Fatty Acids*. 2006; 75:259-269.

Chen CH, Lennox B, Jacob R, Calder A, Lupson V, Bisbrown-CHippendale R. Explicit and implicit facial affect recognition in manic and depressed states of bipolar disorder: a functional magnetic resonance imaging study. *Biolog. Psych*. 2006; 59:31-39.

Clay HB, Sullivan S, Konradi C. Mitochondrial dysfunction and pathology in bipolar disorder and schizophrenia. *Int J Dev Neurosci*. 2011; 3:311-324.

Coutts RT, Nazarali AJ, Baker GB, Pasutto FM. Metabolism and disposition of N-(2-cyanoethyl) amphetamine (fenproporex) and amphetamine: study in the rat brain. *Can J Physiol Pharmacol*. 1986; 6:724-728.

Cummings JL. Frontal-subcortical circuits and human behavior. *Archives of Neurology*. 1993; 50:873-880.

Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth Enzymol*. 1990; 186:421-31.

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; 5:362-365.

Fagiolini A, Kupfer DJ, Houck PR. Obesity as a correlate of outcome in patients with bipolar disorder. *Am j psychiatry*. 2003; 16:112-117.

Frey BN, Andreazza AC, Ceresér 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; 79:281-286.

Frey BN, Martins MR, Petronilho FC, Dal-Pizzol F, Quevedo J, Kapczinski F. Increased oxidative stress after repeated amphetamine exposure: possible relevance as a model of mania. *Bipolar Disord*. 2006b; 8:275-280.

Frey BN, Valvassori SS, Réus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J. Psychiatry Neurosci*. 2006c; 31:326-332.

Frey BN, Valvassori SS, Réus GZ, Martins MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J. Changes in antioxidant defense enzymes after d-amphetamine exposure: implications as an animal model of mania. *Neurochem. Res*. 2006d; 31:699-703.

Gertsik L, Poland RE, Bresee C, Rapaport MH. Omega-3 fatty acid augmentation of citalopram treatment for patients with major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2012; 1:61-64.

Ghribi O, Herman MM, Savory J. Lithium inhibits Abeta-induced stress in endoplasmic reticulum of rabbit hippocampus but does not prevent oxidative damage and tau phosphorylation. *J Neurosci Res*. 2003; 71:853-862.

Gigante AD, Andreazza AC, Lafer B, Yatham LN, Beasley CL, Young LT. Decreased mRNA expression of uncoupling protein 2, a mitochondrial proton transporter, in post-mortem prefrontal cortex from patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2011; 7:47-51.

Godwin A, Prabhu HR. Lipid peroxidation of fish oils. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2006; 21:202-204.

Gould TJ, Keith RA, Bhat RV. Differential sensitivity to lithium's reversal of amphetamine-induced open-field activity in two inbred strains of mice. *Behav. Brain Res*. 2001; 118:95-105.

Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*. 2001; 18:685-716.

Kaplan HI, Saldock BJ. *Tratado de Psiquiatria*. 6^o ed. Porto Alegre: Artmed, 1999. 1188-1193-1253 p.

Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochem. and Function*. 2002; 20:171-5.

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

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 1951; 193:265-267.

Machado-Vieira R, Kapczinski F, Soares JC. Perspective for the development of animals models of bipolar disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2004; 28:209-224.

Machado-Vieira, R. e cols. Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode. *Biol. Psychiatry*. 2007; 61(2):142-4.

Martinez D, Slifstein M, Broft A, Mawlawi O, Hwang DR, Huang Y, Cooper T, Kegeles L, Zarah E, Abi-Dargham A, Haber SN, Laruelle M. Imaging human mesolimbic dopamine transmission with positron emission tomography. Part II: amphetamine-induced dopamine release in the functional subdivisions of the striatum. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2003; 23:285-300.

Mazza M, Pomponi M, Janiri L, Bria P, Mazza S. Omega-3 fatty acids and antioxidants in neurological and psychiatric diseases: an overview. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007; 31(1):12-26.

Mischoulon D. Update and critique of natural remedies as antidepressant treatments. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2009; 36(4):789-807.

Mori TA, Puddey IB, Burke V, Croft KD, Dunstan DW, Rivera JH. Effect of omega 3 fatty acids on oxidative stress in humans: GC-MS measurement of urinary F2-isoprostane excretion. *Redox Rep*. 2000; 5(1):45-6.

Nierenberg AA, Kansky C, Brennan BP, Shelton RC, Perlis R, Iosifescu DV. Mitochondrial modulators for bipolar disorder: A pathophysiologically informed paradigm for new drug development. *Aust N Z J Psychiatry*. 2012; 18:26-42.

Noaghiul S, Hibbeln JR. Cross-national comparisons of seafood consumption and rates of bipolar disorders. *Am. J. Psychiatry*. 2003; 16:2222-2227.

Obata T. Dopamine efflux by MPTP and hydroxyl radical generation. *J Neural Transm*. 2002; 109(9):1159-80.

Pantazopoulos H, Stone D, Walsh J, Benes FM. Differences in the cellular distribution of D1 receptor mRNA in the hippocampus of bipolars and schizophrenics. *Synapse*. 2004; 54:147-155.

Pompéia C. Essencialidade dos ácidos graxos. In: Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procopio J. *Entendendo a gordura: os ácidos graxos*. São Paulo: Manole; 2002. p.27-32.

Rezin GT, Jeremias IC, Ferreira GK, Cardoso MR, Morais MO, Gomes LM, Martinello OB, Valvassori SS, Quevedo J, Streck EL. Brain energy metabolism

is activated after acute and chronic administration of fenproporex in young rats. *Int J Dev Neurosci.* 2011; 29:937-942.

Shaltiel G, Guang C, Husseini K, Manji HK. Neurotrophic signaling cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Current Opinion Pharmac.* 2007; 7: 22-26.

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

Steckert AV, Valvassori SS, Moretti M, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Role of oxidative stress in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neurochem Res.* 2010; 9:1295-1301.

Strakowski SM, Adler C, Delbello MP. Comparison of morphometric magnetic resonance imaging findings in bipolar disorder and unipolar depression. *Bip. Disord.* 2002; 4:80-88.

Tapia-Saavedra A. Estrés oxidativo y depresión. ¿Un posible rol etiológico? *Rev Chil Neuro-Psiquiat.* 2005; 43(4):329-36.

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

Valvassori SS, Petronilho FC, Réus GZ, Steckert AV, Oliveira VB, Boeck CR, Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Effect of N-acetylcysteine and/or deferoxamine on oxidative stress and hyperactivity in an animal model of mania. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2008; 32:1064-1068.

Vianna MR, Alonso M, Viola H, Quevedo J, De Paris F, Furman M, De Stein ML, Medina JH, Izquierdo I. Role of hippocampal signaling pathways in long-term memory formation of a nonassociative learning task in the rat. *Learn. & mem.* 2000; 7:333-340.

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

Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the antiinflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr. Rev.* 2010; 68:280-289.

Walpoth-Niederwanger M, Kemmler G, Grunze H, Wei U, Hörtnagl C, Strau R, Blasko I, Hausmann A. Treatment patterns in inpatients with bipolar disorder at a psychiatric university hospital over a 9-year period: focus on mood stabilizers. *Int Clin Psychopharmacol.* 2012 Jul 26.

Zarate CA Jr, Singh J, Manji HK. Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2006; 11:1006-1020.

LEGENDAS

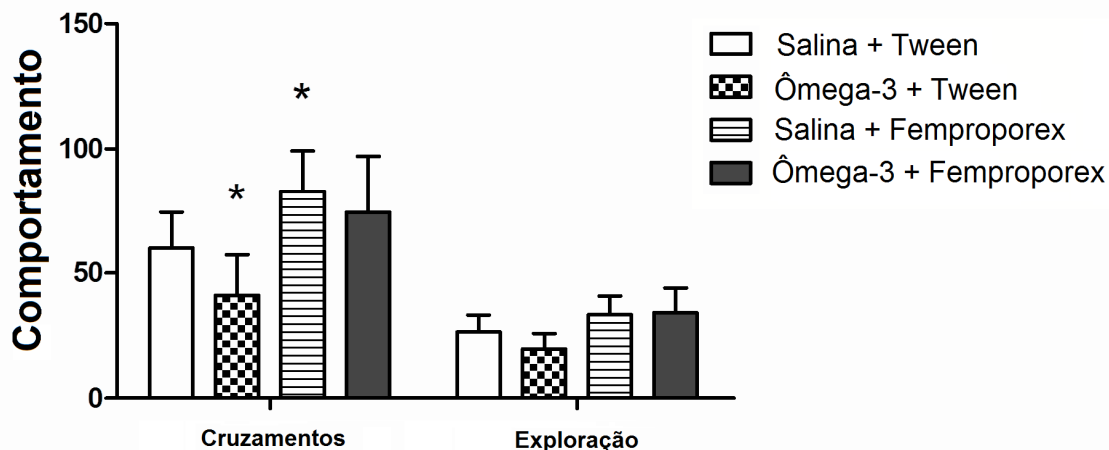


Figura 1. Efeitos do ômega-3 sobre parâmetro comportamental de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex. Número de cruzamentos e exploração no protocolo de prevenção. Os animais foram avaliados durante 5 minutos a tarefa de campo aberto. Dados foram avaliados por análise de duas-vias ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F for significativo. *Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo com mania; $p < 0,05$.

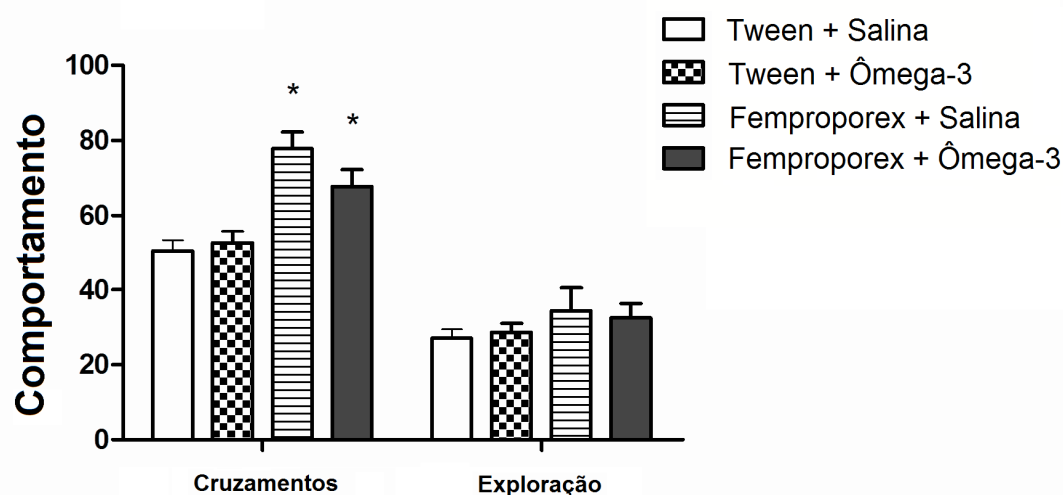


Figura 2. Efeitos do ômega-3 sobre parâmetro comportamental de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex. Número de cruzamentos e levantamentos no protocolo de reversão. Os animais foram avaliados

durante 5 minutos a tarefa de campo aberto. Dados foram avaliados por análise de duas-vias ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F for significativo.

*Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo com mania; $p < 0,05$.

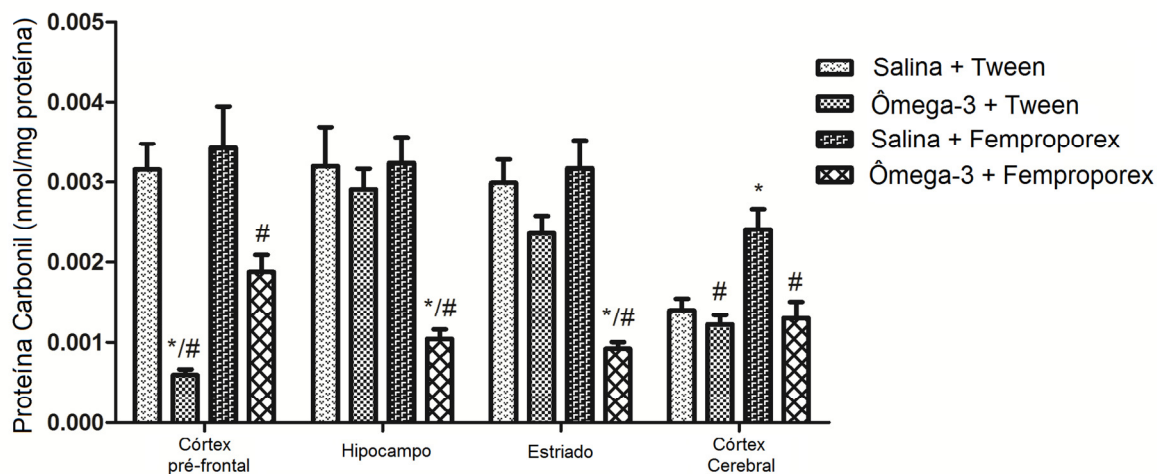


Figura 3. Efeitos do ômega-3 sobre os níveis de formação de proteína carbonil em cérebro de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex no protocolo de prevenção. Dados foram avaliados por análise de uma-via ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F for significativo.

*Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo com mania; $p < 0,05$.

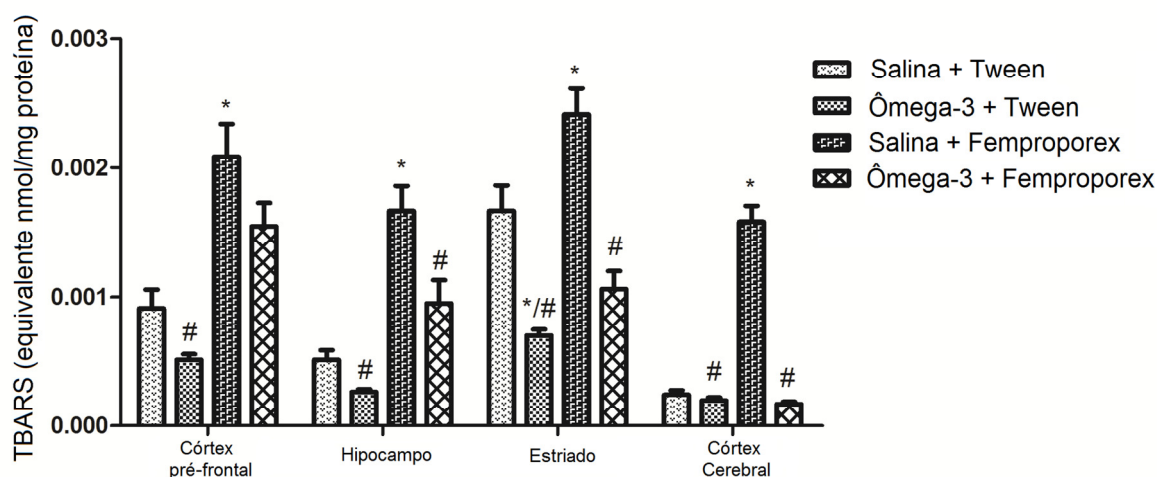


Figura 4. Efeitos do ômega-3 sobre os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico em cérebro de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex no protocolo de prevenção. Dados foram avaliados por análise

de uma-via ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F for significativo.

*Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo com mania; $p < 0,05$.

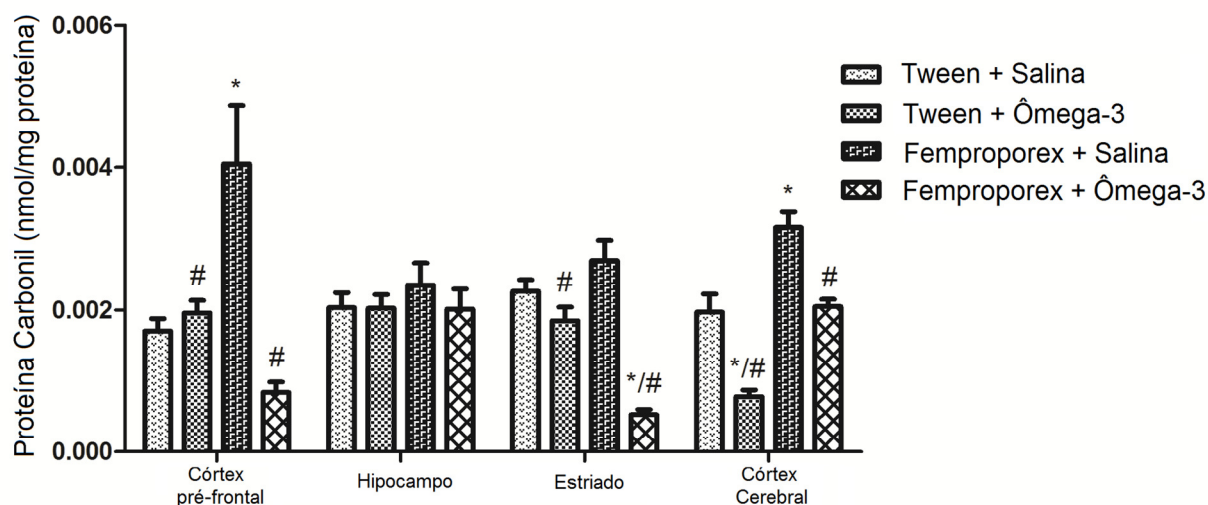


Figura 5. Efeitos do ômega-3 sobre os níveis de formação de proteína carbonil em cérebro de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex no protocolo de reversão. Dados foram avaliados por análise de uma-via ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F for significativo.

*Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo com mania; $p < 0,05$.

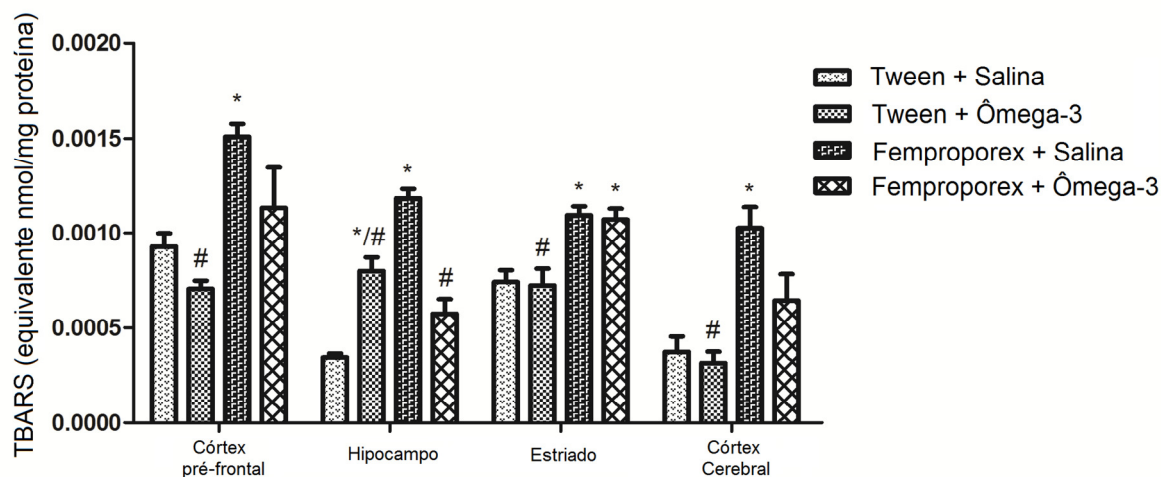


Figura 6. Efeitos do ômega-3 sobre os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico em cérebro de animais submetidos ao modelo de mania por femproporex no protocolo de reversão. Dados foram avaliados por análise de uma-via ANOVA seguido pelo teste Tukey quando F for significativo.

*Diferente do grupo controle; $p < 0,05$. # Diferente do grupo com mania; $p < 0,05$.

