



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA**

ISABELLA MARIA DE OLIVEIRA PONTES

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM LÍLIO NA MEMÓRIA AVERSIVA,
COMPORTAMENTOS RELACIONADOS À ANSIEDADE E DEPRESSÃO E
NA EXPRESSÃO DE BDNF EM RATOS**

NATAL

2014

ISABELLA MARIA DE OLIVEIRA PONTES

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM LÍCIO NA MEMÓRIA AVERSIVA,
COMPORTAMENTOS RELACIONADOS À ANSIEDADE E DEPRESSÃO E
NA EXPRESSÃO DE BDNF EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Psicobiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Psicobiologia (Área Psicologia Fisiológica).

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Regina Helena da Silva
Co-orientadora: Dr.^a. Rovena Clara G. J. Engelberth

NATAL

2014

Catálogo da Publicação na Fonte
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Pontes, Isabella Maria De Oliveira.

Efeitos do tratamento com lítio na memória aversiva, comportamentos relacionados à ansiedade e depressão e na expressão de BDNF em ratos / Isabella Maria De Oliveira Pontes. - Natal, 2014.

87f: il.

Coorientadora: Dra. Rovena Clara G. J. Engelberth.

Orientadora: Profa. Dra. Regina Helena da Silva.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Psicobiologia.

1. Ansiedade - Dissertação. 2. Depressão - Dissertação. 3. Memória aversiva - Dissertação. I. Engelberth, Rovena Clara G. J. II. Silva, Regina Helena da. III. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. IV. Título.

RN/UF/BSE01

CDU 616.89-008.441

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que não mediram esforços para me oferecer educação de qualidade para que um dia eu pudesse ingressar na Universidade. Eles que estiveram ao meu lado, compartilhando das vitórias e derrotas, me incentivando a seguir, mesmo quando os obstáculos pareciam intransponíveis. Que mesmo estando longe há tanto tempo, estiveram ao meu lado apoiando todos os meus projetos. Dedico a vocês a minha mais profunda admiração e gratidão, pois tenho consciência de que nada nas nossas vidas foi fácil.

À minha irmã, Maria Luísa, que sempre esteve ao meu lado me apoiando e me defendendo, torcendo por mim e vibrando com cada vitória.

À João, que com a sua chegada, trouxe alegria para nossa família. Que só de me olhar e me chamar de “titi” me faz tão feliz.

À minha avó, Zenita, que me acolheu em seu colo na ausência dos meus pais. Mesmo não fazendo idéia do que eu faço se interessa pelas minhas conquistas e sempre me lembra que eu tenho sempre que seguir em frente para “vencer na vida”.

À minha tia, Lúcia, que me ofereceu a sua casa como moradia durante esses anos de mestrado. Ela que é o meu exemplo dentro de casa na carreira acadêmica e que se enche de orgulho a cada degrau que me ver subir.

À Igor, meu namorado, que nesta etapa final tem sido o meu maior incentivador, mostrando toda a minha potencialidade e tornando esse final tão angustiante mais ameno.

Ao final de mais uma etapa, é normal fazermos uma retrospectiva da nossa vida. Um filme passa em nossa cabeça e paramos para nos perguntar se realmente alcançamos todos os nossos objetivos e se isso tudo valeu a pena. De fato eu sei estou longe do auge da minha carreira, mas de uma coisa eu tenho certeza: estou no caminho certo.

Entrei na Universidade com um sonho de um dia me tornar cientista. Na época não tinha nem noção do quanto seria difícil chegar lá, por quantas

etapas teria que passar para conseguir realizar esse sonho. O caminho tem sido árduo até aqui, foram muitos finais de semana na companhia dos ratinhos e dos colegas de laboratório, muitas reuniões em família que precisei me ausentar, muitas madrugadas estudando, analisando dados, etc. No entanto, quando olho para trás vejo que muitas coisas boas aconteceram nesse caminho e me dou conta do quão sortuda eu sou.

Ao tentar ingressar na carreira científica, ainda como IC, fiquei sabendo por colegas das reuniões do laboratório da professora Regina e decidi participar para ver como era. Ao chegar lá fui extremamente bem recebida, me interessei pelas linhas de pesquisa e imediatamente quis me engajar em uma delas. O laboratório ainda era precário, não tínhamos equipamentos sofisticados, biotério com condições controladas, etc. Mas percebi naquele grupo que para fazer ciência bastavam alguns ratos, o mínimo de equipamentos (muitos improvisados), muita força de vontade e espírito de equipe.

No LEME, acabei ganhando uma mãe científica, Regina, aquela que me guiou nesse caminho, me permitindo determinar meu próprio projeto e trabalhar com aquilo que me interessava. Que me mostrou que em primeiro lugar devemos prezar o conhecimento teórico para poder aplicar na pesquisa, que mostrou a importância de observar o animal para entender o seu comportamento, que me deu puxões de orelha quando “pisei na bola”, que me incentivou em todo esse percurso e me mostrou que poderíamos ser uma família: a família LEME.

Como uma das alunas mais antigas do laboratório, vi pessoas chegarem e irem embora. Particpei do progresso do laboratório. Percebi neste tempo que, com boa vontade, senso de liderança e uma equipe unida, é possível fazer um laboratório surgir do nada e se tornar um dos mais reconhecidos dentro do programa de pós-graduação e até nacionalmente. Vi o LEME crescer e se espalhar pelo país levando a sua essência.

No entanto, o mais importante que o LEME e Regina deixaram na minha vida foram as amizades que ali fiz, meus irmãos científicos. Aprendemos a

viver como uma família, com suas diferenças mas sempre se ajudando nas horas de aperto. Verdadeiros companheiros.

Gostaria de agradecer a todos da família LEME por tudo que aprendi com vocês, pela ajuda nos experimentos, pelas discussões interessantes. Obrigada pelas boas lembranças que vocês deixarão na minha vida: nossas viagens inesquecíveis para congressos Brasil afora, todas as comemorações pelas vitórias do grupo, pelos momentos de descontração e pela amizade.

À Regina, minha orientadora, por ter segurado na minha mão e me mostrado como fazer ciência. Por ter me proporcionado viver todos esses anos de alegria no LEME.

À André, em especial, por todo tempo que se engajou nesse projeto. Por ter me ajudado em todas as etapas, desde a manipulação dos animais até a discussão dos meus resultados. Por ter sido meu amigo fiel desde o início da graduação e por ter crescido junto comigo dentro do LEME.

À Aline e Fernanda, pelas amigas que ganhei para o resto da vida. Obrigada pelos momentos que estiveram disponíveis para me ajudar, seja no laboratório ou apenas com uma conversa. A companhia de vocês foi muito importante.

À Rovená, minha co-orientadora que contribuiu muito para a conclusão desse trabalho.

À todos que estão ou que já pertenceram ao LEME, meu muito obrigado. Conviver com vocês tornou meus dias mais felizes. Fazer ciência com vocês não tem preço!

Aos ratinhos que perderam suas vidas em minhas mãos para o avanço da ciência.

À UFRN, ao Programa de Pós-graduação em Psicobiologia e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Essa é apenas mais uma etapa concluída. O doutorado me aguarda!

SUMÁRIO

RESUMO	1
1. INTRODUÇÃO	5
1.1. Transtorno Bipolar	5
1.2. Mecanismo de ação do lítio	9
1.3. Efeitos do lítio na memória	13
1.4. Memória e ansiedade	15
1.5. Efeitos do lítio na ansiedade	17
1.6. Efeitos do lítio na depressão	18
1.7. Influência do lítio na expressão de BDNF	19
2. OBJETIVOS	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
3.1. Animais e procedimentos gerais	21
3.2. Drogas	22
3.3. Experimento I: tratamento agudo	22
3.4. Esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado	23
3.5. Nado forçado	24
3.6. Experimento II: tratamento crônico	24
3.7. Dosagem sérica de lítio	25
3.8. Análises Histológicas.....	26
3.8.1. Perfusão e processamento do cérebro	26
3.8.2. Imunohistoquímica para fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF)	27
3.8.3. Avaliação da densitometria óptica relativa (DOR).....	28
3.9. Análise estatística	29
4. RESULTADOS	29
4.1. Experimento I: tratamento agudo	29
4.2. Experimento II: tratamento crônico	38
5. DISCUSSÃO	47
6. CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS.....	60

RESUMO

Lítio (Li) é o fármaco de escolha para o tratamento do transtorno bipolar, doença psiquiátrica caracterizada por oscilações de humor entre mania e depressão. Entretanto, estudos mostram que essa droga pode ter influência sobre os processos mnemônicos devido a seu caráter neuroprotetor, antiapoptótico e neurogênico. O emprego do lítio para o tratamento de déficits cognitivos provocados por lesões cerebrais ou doenças neurodegenerativas vem sendo amplamente estudado, visto que esse fármaco mostra-se capaz de prevenir ou até mesmo aliviar prejuízos na memória. Os efeitos do Li na ansiedade e depressão são controversos e a relação entre os efeitos do Li na memória, ansiedade e depressão são ainda desconhecidos. Neste contexto, os objetivos deste estudo foram: avaliar os efeitos da administração aguda e crônica de carbonato de lítio na memória aversiva e ansiedade, simultaneamente, utilizando a esQUIVA discriminativa no labirinto em cruz elevado (ED); testar o efeito antidepressivo do fármaco através do teste do nado forçado (NF); avaliar a expressão de fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) em estruturas relacionadas com memória e emoção. Para a avaliação do efeito agudo, ratos Wistar machos foram submetidos à administração intraperitoneal de carbonato de lítio 50, 100 ou 200 mg/kg uma hora antes do treino (ED) ou carbonato de lítio 50 ou 100 mg/kg uma hora antes do teste (NF). Para a avaliação crônica, foram administradas as doses de 50 ou 100 mg/kg ou veículo por 21 dias antes do início das tarefas comportamentais (ED e NF). Após o término dessas tarefas, os animais foram eutanasiados e seus encéfalos removidos para realização de imunohistoquímica para quantificar BDNF. Os animais que receberam tratamento agudo com Li nas doses de 100 e 200 mg/kg não demonstraram discriminação entre os braços fechados (aversivo e não-aversivo) na sessão treino da ED, mostrando que esses animais não aprenderam a tarefa. Essa ausência na discriminação foi observada também na sessão teste, mostrando que não houve evocação da memória aversiva. Foi ainda observado um aumento da exploração dos braços abertos para essas mesmas doses, apontando um efeito ansiolítico do fármaco. Os mesmos grupos apresentaram ainda uma redução na atividade locomotora, no entanto, esse efeito parece não estar relacionado com o efeito ansiolítico do fármaco. O tratamento crônico com lítio não promoveu alterações nos processos de aprendizado e memória. No entanto, foi observado uma redução da exploração dos braços abertos pelos animais tratados com a dose de 50 mg/kg em relação aos outros grupos, mostrando um efeito ansiogênico causado pelo tratamento crônico. Esse efeito não está relacionado a alterações locomotoras, visto que não foi detectado alterações nesses parâmetros. Ambos os tratamentos (agudo e crônico) foram ineficazes em demonstrar o efeito antidepressivo do lítio na tarefa do NF. O tratamento crônico com lítio também não foi capaz de alterar a expressão de BDNF no hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal. Esses resultados sugerem que a administração aguda de lítio promove prejuízos no aprendizado em uma tarefa aversiva, impedindo a ocorrência de consolidação e evocação da memória. A redução da ansiedade no tratamento agudo pode ter impedido o aprendizado da tarefa aversiva, visto que já foi verificado que níveis adequados de ansiedade são necessários para que ocorra aprendizado com contexto

emocional. Com a continuidade do tratamento os animais recuperam a capacidade de aprender e evocar a tarefa, mas não apresentam alterações em relação ao grupo controle e a ausência de alteração na expressão de BDNF corrobora esse resultado. Possivelmente, o regime de tratamento utilizado não foi capaz de promover melhora cognitiva nos animais. O lítio demonstrou efeito ansiolítico agudo, todavia a administração crônica promoveu efeito oposto. Mais estudos são necessários para esclarecer o potencial efeito benéfico do lítio sobre a memória.

Palavras-chave: Lítio, memória aversiva, aprendizado, ansiedade, depressão, BDNF, esquia discriminativa, nado forçado, ratos.

ABSTRACT

Lithium (Li) is the first choice to treat bipolar disorder, a psychiatric illness characterized by mood oscillations between mania and depression. However, studies have demonstrated that this drug might influence mnemonic process due to its neuroprotector, antiapoptotic and neurogenic effects. The use of Li in the treatment of cognitive deficits caused by brain injury or neurodegenerative disorders have been widely studied, and this drug shows to be effective in preventing or even alleviating the memory impairment. The effects of Li on anxiety and depression are controversial and the relationship of the effects of lithium on memory, anxiety and depression remain unknown. In this context, this study aims to: evaluate the effects of acute and chronic administration of lithium carbonate in aversive memory and anxiety, simultaneously, using the plus maze discriminative avoidance task (PMDAT); test the antidepressant effect of the drug through the forced swimming test (FS) and analyze brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression in structures related to memory and emotion. To evaluation of the acute effects, male Wistar rats were submitted to i.p. administration of lithium carbonate (50, 100 or 200 mg/kg) one hour before the training session (PMDAT) or lithium carbonate (50 or 100 mg/kg) one hour before the test session (FS). To evaluation of the chronic effects, the doses administered were 50 or 100 mg/kg or vehicle once a day for 21 days before the beginning of behavioral tasks (PMDAT and FS). Afterwards, the animals were euthanized and their brains removed and submitted to immunohistochemistry procedure to quantify BDNF. The animals that received acute treatment with 100 and 200 mg/kg of Li did not discriminate between the enclosed arms (aversive and non-aversive) in the training session of PMDAT, showing that these animals did not learn the task. This lack of discrimination was also observed in the test session, showing that the animals did not recall the aversive task. We also observed an increased exploration of the open arms of these same groups, indicating an anxiolytic effect. The same groups showed a reduction of locomotor activity, however, this effect does not seem to be related with the anxiolytic effect of the drug. Chronic treatment with Li did not promote alterations on learning or memory processes. Nevertheless, we observed a reduction of open arms exploration by animals treated with 50 mg/kg when compared to the other groups, showing an anxiogenic effect caused by this dose. This effect is not related to locomotor alterations since there were no alterations in these parameters. Both acute and chronic treatment were ineffective in the FS. Chronic treatment with lithium was not able to modify BDNF expression in hippocampus, amygdala and pre-frontal cortex. These results suggest that acute administration of lithium promotes impairments on learning in an aversive task, blocking the occurrence of memory consolidation and retrieval. The reduction of anxiety following acute treatment may have prevented the learning of the aversive task, as it has been found that optimum levels of anxiety are necessary for the occurrence of learning with emotional context. With continued treatment the animals recover the ability to learn and recall the task. Indeed, they do not show differences in relation to control group, and the lack of alterations on BDNF expression corroborates this result. Possibly, the regimen of treatment used was not able to promote cognitive improvement. Li showed acute anxiolytic effect, however chronic administration

promoted the opposite effect. More studies are necessary to clarify the potential beneficial effect of Li on aversive memory.

Keywords: Lithium, aversive memory, learning, anxiety, depression, BDNF, plus maze discriminative avoidance task, forced swimming, rats.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Transtorno Bipolar

O Transtorno Bipolar (TB) é um transtorno mental grave que acomete indivíduos jovens, cujo curso em geral é crônico e muitas vezes incapacitante. Ele está presente em cerca de 1-3% da população de todo o mundo, e está associado a um alto índice de suicídio e desemprego (MÜLLER-OERLINGHAUSEN *et al*, 2002; WEISSMAN *et al*, 1996). Afeta homens e mulheres na mesma proporção e o início dos sintomas ocorre entre 15 e 30 anos de idade (GOODWIN & JAMISON, 1990). Esse transtorno apresenta-se comumente em comorbidade com outros distúrbios psiquiátricos como ansiedade, transtorno obsessivo-compulsivo, síndrome do pânico e sociofobia (ALBERT *et al*, 2008; ISSLER *et al*, 2004).

O TB é caracterizado por episódios de humor, que variam entre depressão, mania ou a combinação desses episódios, e que são intercalados por períodos sub-sintomáticos ou de eutimia (equilíbrio do humor ou humor normal, o que pode ser identificado como uma remissão dos sintomas) (GOULD & EINAT, 2007). O TB é classificado, principalmente, em dois tipos. O tipo I é caracterizado pelo predomínio da fase maníaca com depressão mais leve (distímia). Já o tipo II é caracterizado pelo predomínio da fase depressiva com mania mais leve (hipomania). Do ponto de vista do diagnóstico, pressupõem-se que a ocorrência de pelo menos um episódio maníaco ou hipomaníaco durante a vida é suficiente para a identificação do TB. A presença de episódio maníaco confere o diagnóstico de TB tipo I, enquanto a presença de episódio hipomaníaco confere o diagnóstico de TB tipo II (BELMAKER, 2004). A presença de um episódio maníaco é definida por uma elevação persistente do

humor (humor eufórico ou irritável), acompanhado por pelo menos três dos seguintes sintomas: aumento da autoconfiança ou grandiosidade; taquilalia ou pressão por falar; diminuição da necessidade do sono; pensamento acelerado ou fuga de idéias; distraibilidade; alteração do comportamento dirigido para atividades prazerosas, frequentemente imprudentes ou perigosas; agitação psicomotora. Além disso, o episódio deve ser suficientemente grave para causar prejuízo significativo no âmbito familiar, social ou ocupacional, ou necessidade de hospitalização, ou ainda ser acompanhado por sintomas psicóticos.

Devido ao seu curso crônico e a frequente reincidência e gravidade dos sintomas de humor, o tratamento do TB atualmente baseia-se no manejo dos episódios agudos e no tratamento de manutenção como prevenção para ocorrência de novos episódios (YATHAM *et al*, 2005). Além dos episódios serem incapacitantes, estudos mostram que a demora no diagnóstico e o número maior de crises refletem ou prognosticam uma piora cognitiva e clínica geral do paciente bipolar. Estudos ainda indicam que alterações neuroquímicas induzidas pela mania estão associadas ao surgimento de lesões em células neurais (JOHNSTON-WILSON *et al*, 2000; POST *et al*, 1982). Segundo essa hipótese, a conduta para que os pacientes se mantenham eutímicos o maior tempo possível teria um efeito de proteção neuronal, na medida em que durante as fases maníacas e depressivas os mesmos estariam mais suscetíveis aos efeitos de danos no material genético (ANDREAZZA; FREY *et al*, 2007).

A etiologia e a neurobiologia do TB não estão totalmente esclarecidas, entretanto vários estudos tentam explicar a sua fisiopatologia. As bases

biológicas deste transtorno incluem estudos relacionados à genética e regulação da expressão gênica, vias de transcrição de sinais, vias neuro-hormonais, neurotransmissão, estresse oxidativo, entre outros. Portanto, a fisiopatologia do TB parece ser altamente complexa, envolvendo a interação de vários sistemas de neurotransmissão e circuitos cerebrais (BOWDEN, 2008).

Alguns estudos têm demonstrado que mudanças em vias intracelulares que regulam a transmissão neuronal, plasticidade e sobrevivência estão associadas com a fisiopatologia do TB (COYLE *et al*, 2003; MANJI; DREVETS *et al*, 2001). Estudos neuroanatômicos, baseados nas imagens obtidas por ressonância magnética, demonstram alterações do volume de determinadas regiões cerebrais envolvidas na regulação do humor como, por exemplo, a diminuição do volume do córtex pré-frontal (CPF) (MANJI & DUMAN, 2001) e o aumento do volume da amígdala e do estriado (HAJEK *et al*, 2005; STRAKOWSKI *et al*, 2005). Já os estudos neurofuncionais, baseados em ressonância magnética funcional e tomografia por emissão de pósitrons (PET), apontam a diminuição significativa do metabolismo do CPF durante a depressão e subsequente aumento em algumas regiões do CPF durante a fase maníaca. Além disso, a diminuição do metabolismo do CPF parece estar acompanhada de um aumento no metabolismo da amígdala e do estriado, sugerindo que alterações no circuito que compreende o CPF, sistema límbico e gânglios da base podem estar associadas à fisiopatologia do TB (MALHI *et al*, 2004; STRAKOWSKI *et al*, 2005).

Além disso, estudos de espectroscopia por ressonância magnética têm mostrado níveis de N-acetilaspártato (um marcador de viabilidade neuronal) reduzidos no hipocampo de pacientes bipolares (DEICKEN *et al*, 2003),

sugerindo que o TB pode estar associado com uma disfunção hipocampal. De fato, indivíduos com TB exibem uma diminuição da arborização de dendritos apicais, bem como diminuição da densidade de espinhas dendríticas em neurônios piramidais do hipocampo (ROSOKLIJA *et al*, 2000). Também apresentam uma diminuição do número de neurônios não-piramidais na região CA2 (BENES *et al*, 1998). A avaliação destas alterações neuropatológicas sugeriam que estas modificações seguiam um padrão de alteração no desenvolvimento neuronal e de neuroplasticidade, e não um padrão de degeneração cerebral (RAJKOWSKA, 2003).

Em 1992, Post sugeriu o modelo da neurosensibilização que postula que a ocorrência de vários episódios pode levar a alterações permanentes na atividade neuronal (POST, 1992). Estudos mais recentes corroboram esse achado apontando o transtorno bipolar como um processo degenerativo, promovendo apoptose e atrofia de várias regiões cerebrais e sugerindo o modelo da neuroprogressão no transtorno bipolar (BERK, 2011).

A escassez de modelos animais apropriados para TB dificulta significativamente a pesquisa da sua fisiopatologia e o desenvolvimento de novos tratamentos (GOULD & EINAT, 2007; TECOTT & NESTLER, 2004). Possivelmente o pequeno avanço ocorrido no tratamento do TB e no desenvolvimento de modelos animais adequados para o estudo da doença deve-se ao pouco conhecimento que ainda se tem acerca dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos neste transtorno.

O tratamento farmacológico é imprescindível e tem como objetivo reduzir a frequência dos episódios, a gravidade da doença e melhorar as consequências psicológicas e sociais (GUSCOTT & TAYLOR, 1994; SPROULE, 2002). O

fármaco de primeira linha para o tratamento do TB é o lítio, que tem capacidade de controlar a fase maníaca, os sintomas depressivos da doença, prevenir a ocorrência de novos episódios e reduzir o índice de suicídio dos pacientes (SCHOU, 1997; SPROULE, 2002; KECK, 2003).

1.2. Mecanismo de ação do lítio

Em geral os fármacos utilizados para tratar o TB são anticonvulsivantes, antipsicóticos atípicos e antidepressivos. Entre eles, os mais conhecidos são valproato, lamotrigina, carbamazepina. Esses fármacos também estão incluídos na classe dos estabilizadores do humor, drogas mais utilizadas no tratamento do TB. Entretanto, o lítio é a droga de primeira escolha no tratamento (YOUNG & NEWHAM, 2006) e profilaxia de episódios agudos tanto maníacos como depressivos do TB.

Pacientes com TB frequentemente são tratados com mais de um agente em várias doses e por períodos diferentes, usando-se combinações de estabilizadores do humor, antipsicóticos, antidepressivos e benzodiazepínicos hipnóticos (BOWDEN, 2003).

O lítio foi introduzido há 60 anos por John Cade para o tratamento do transtorno bipolar e permanece até hoje como o fármaco de primeira linha por causa da sua eficácia na estabilização do humor a longo prazo apoiada por uma gama de evidências empíricas e experiências clínicas (MALHI *et al*, 2013). No entanto, os mecanismos pelos quais o lítio exerce seu efeito clínico não são completamente conhecidos.

Vários estudos vêm sendo realizados para investigar o mecanismo de ação do lítio, desde estudos macroscópicos (mudanças nos sintomas clínicos e em

estruturas cerebrais) até estudos microscópicos (alterações em níveis celular e intracelular). As ações macroscópicas do lítio vão desde a manutenção e profilaxia da mania e depressão e redução do declínio cognitivo em pacientes com TB até alterações estruturais no volume de regiões cerebrais como, por exemplo, córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e amígdala (AM). Em nível neuronal, o lítio reduz a neurotransmissão excitatória (modulada pela dopamina e glutamato) e aumenta a neurotransmissão inibitória (pela modulação de GABA). Dentro da célula, os mecanismos moleculares ocorrem através da modulação de segundos mensageiros que, por sua vez, modulam a neurotransmissão (MALHI *et al*, 2013).

Além de ser útil no tratamento de TB, o lítio vem sendo estudado como uma provável alternativa ao tratamento de inúmeras outras doenças como, por exemplo, demência (YEH & OUYANG, 2012; YOUNG, 2011), doença de Alzheimer (FORLENZA *et al*, 2012) e até lesões cerebrais (YU *et al*, 2012; TAKAHASHI *et al*, 2012).

Várias hipóteses têm sido propostas para explicar os mecanismos de ação de agentes aprovados para o tratamento do TB, particularmente os estabilizadores do humor. Existem dados que corroboram os efeitos neurotróficos como uma hipótese unificadora para a eficácia do lítio (MACHADO-VIEIRA *et al*, 2010).

Segundo Malhi e colaboradores (2013), o lítio tem efeitos neuroprotetores, atuando na redução do estresse oxidativo que ocorre com a alta reincidência de episódios de mania ou depressão, aumentando a expressão de neurotrofinas como o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) e de Bcl-2

e reduzindo o processo apoptótico através da inibição de GSK-3 e da autofagia.

Tendo em vista o modelo da neuroprogressão, as ações do lítio parecem confirmar essa teoria, visto que esse fármaco tem a capacidade de inibir apoptose (QUIROZ et al, 2010), induzir o surgimento de novas células, ou seja, favorece a neuroproliferação (BERK, 2009; CHEN et al, 2000; POST et al, 2003), além de interromper processos neurotóxicos que levam à vulnerabilidade do tecido e progressivas mudanças estruturais e funcionais (BERK, 2011).

Dado que o lítio é conhecido por afetar a sinalização Wnt através da GSK-3 β (*glycogen synthase kinase 3-beta*) e as moléculas sinalizadoras Wnt são abundantes em regiões sinápticas, esta via parece ser uma boa candidata para investigação do mecanismo de ação de estabilizadores do humor (HOOPER *et al*, 2007; TAKEICHI & ABE, 2005). As Wnts compreendem uma classe de proteínas secretadas que controlam processos de desenvolvimento essenciais como padronização embrionária, crescimento celular, migração e diferenciação (MIKELS & NUSSE, 2006). Sua ação é em grande parte exercida pela modulação da transcrição gênica (LOGAN & NUSSE, 2004). Anormalidades nessas vias tem sido implicadas em um número de doenças crônicas, como câncer (MOON *et al*, 2004), e mais recentemente, em algumas doenças psiquiátricas, como por exemplo, o TB. Toledo e Inestrosa (2010) sugerem que o lítio ativa a sinalização Wnt, que está envolvida na doença de Alzheimer, reduzindo o prejuízo na memória espacial induzido pela sobrecarga de β -amilóide. Contestabile e colaboradores (2013) mostraram que o lítio é capaz de

promover proliferação de células neuronais precursoras pela ativação da via Wnt/ β -catenina e restaurar a neurogênese no giro denteado a níveis fisiológicos em ratos transgênicos para síndrome de Down.

Os estabilizadores do humor inibem a GSK-3 β , uma proteína que regula vias de sobrevivência e morte celular, e diminuem o inositol, um precursor da via de sinalização do fosfatidilinositol (COYLE & MANJI, 2002; WILLIAMS *et al*, 2002). A primeira evidência de que a GSK-3 β pode ter participação na fisiopatologia do TB foi fornecida pela sua modulação pelo lítio (KLEIN & MELTON, 1996). Além disso, outras terapias estabilizadoras como valproato e eletroconvulsoterapia também têm sido relatadas como inibidoras da GSK-3 β (ROWE *et al*, 2007). A inibição direta da GSK-3 β parece ter uma atividade semelhante à antidepressiva (KAIDANOVICH-BEILIN *et al*, 2004) e aumenta a atividade serotoninérgica, ou ainda, o uso de antidepressivos com atividade serotoninérgica usualmente causa inibição da GSK-3 β (BEAULIEU *et al*, 2004; DRIESSEN & HOLLON, 2011).

Alguns dos efeitos da GSK-3 β pode ser resultado da sua interação com outras substâncias implicadas na manutenção do balanço entre apoptose e sobrevivência celular no cérebro. Anormalidades nos níveis desses mediadores são achados reproduzíveis no TB.

O tratamento crônico com lítio pode reduzir receptores GABA no córtex frontal (HETMAR & NIELSEN, 1988), inibir a adenilato ciclase através de receptores de dopamina D2 (Montezinho *et al.*, 2007), promover transcrição do gene do receptor D2 (KAMEDA *et al*, 2001), e aumentar a atividade do receptor 5HT-2A (JITSUIKI *et al*, 2000). Além disso, estudos sugerem que lítio pode ter

efeito antidepressivo e antimaníaco na clínica, provavelmente pelo fato de interferir no desenvolvimento de supersensibilidade ao receptor de dopamina, melhorando a função GABA e aumentando a ativação de receptores de acetilcolina. O lítio também pode ter um papel antidepressivo através do aumento de serotonina, diminuição da função de receptores α 2-adrenérgico e redução da estimulação de receptores β -adrenérgicos pela adenilato ciclase (PRICE and HENINGER, 1994). Em suma, o efeito neurofarmacológico do lítio parece ser múltiplo, ou seja, deve interferir com diversos sistemas de neurotransmissão, e ainda permanece incerto.

1.3. Efeitos do lítio na memória

A teoria neuroplástica do TB propõe que processos neuroplásticos prejudiciais levam ao comprometimento em comunicações sinápticas de circuitos neuronais envolvidos no TB (MANJI HK & MOORE GJ, 2001). O lítio tem ações neuroplásticas robustas, pois bloqueia a morte neuronal (ROWE & CHUANG, 2004; CHUANG & CHEN *et al*, 2002), estimula a neurogênese (CHEN *et al*, 2000; O'LEARY OF *et al*, 2012) e a proliferação de ramos dendríticos, além de facilitar a atividade sináptica (MANJI *et al*, 2001; SHIM & HAMMONDS, 2009, 2010; SON *et al*, 2003). São essas ações em conjunto que levam ao aprimoramento da plasticidade sináptica e, desse modo, revertem comunicações sinápticas disfuncionais em circuitos neurais envolvidos no TB (SHIM *et al*, 2012).

Entre as estruturas cerebrais envolvidas no aprendizado e memória, foi mostrado que a amígdala participa no armazenamento de informações aversivas (CAHILL & MCGAUGH, 1990; DAVIS, 1992). A relação entre

memória e aspectos negativos da emoção tem sido extensivamente investigada através de modelos animais de memória aversiva (LEDOUX, 2000; MCGAUGH, 2004; SILVA & FRUSSA-FILHO, 2000). Outra estrutura também conhecida por desempenhar um papel fundamental na formação da memória é o sistema septo-hipocampal (IZQUIERDO & MEDINA, 1997) e ainda existem evidências da sua relação com a ansiedade (MCNAUGHTON, 1997).

Estudos eletrofisiológicos mostram que o tratamento crônico com lítio aumenta a potenciação de longa duração (LTP) em neurônios do hipocampo (SHIM *et al*, 2007; SON *et al*, 2003). A LTP é a base neurofisiológica para o desenvolvimento do aprendizado e memória (BARNES, 1995; BLISS & COLLINGRIDGE, 1993). Estudos mais recentes mostram que o lítio amplia a LTP de células piramidais em CA1, suprarregulando a plasticidade sináptica no hipocampo (SHIM *et al*, 2012). Além disso, estudos sugerem que o lítio pode atenuar prejuízos na LTP induzidos por estresse (LIM *et al*, 2005).

Entretanto, evidências clínicas, principalmente em pacientes bipolares, sugerem que o tratamento em curto prazo com lítio pode causar efeitos negativos sutis na memória verbal, embora outras funções cognitivas como a atenção, concentração ou habilidades visuo-espaciais não parecem ser modificadas (PACHET & WISNIEWSKI, 2003).

Alguns estudos mostram que o tratamento com lítio inibe o aprendizado, a memória e a velocidade de processamento de informação em pacientes com TB e em sujeitos saudáveis (HONIG *et al*, 1999; KOCSIS *et al*, 1993; PACHET & WISNIEWSKI, 2003; STIP *et al*, 2000).

Estudos sobre os efeitos do lítio em tarefas de memória são escassos. Um déficit sutil na memória espacial foi observado na tarefa da tábua de buracos

após o tratamento crônico com lítio, no entanto esse déficit não foi observado na memória operacional (AL BANCHAABOUCHE *et al*, 2004).

Por outro lado, também tem sido demonstrado que o lítio melhora a memória em algumas tarefas (TSALTAS *et al*, 2007), e atenua prejuízos à memória induzidos por outros fatores (LIM *et al*, 2005). Administração aguda de lítio pré ou pós-treino tem um efeito prejudicial na memória na tarefa de esQUIVA inibitória e a administração pré-teste da droga reverteu o prejuízo na memória, sugerindo um aprendizado estado-dependente induzido pelo lítio (ZARRINDAST *et al*, 2006; ZARRINDAST *et al*, 2005, 2007).

1.4. Memória e ansiedade

Um dos modelos animais mais amplamente usados para o estudo da ansiedade é o labirinto em cruz elevado, que consiste em um labirinto em formato de cruz com dois braços abertos e dois fechados. Neste modelo, a motivação do rato em explorar o novo ambiente se opõe a sua motivação de permanecer em um lugar seguro. Este conflito resulta em um comportamento típico de ratos neste modelo: elevada exploração dos braços fechados e menor exploração dos braços abertos. Este modelo é derivado do trabalho de Montgomery (1955), estudou a relação entre medo e exploração em ratos, e é baseado na premissa que novidades no ambiente evocam medo e curiosidade, criando assim um típico conflito entre explorar e evitar o novo ambiente (MONTGOMERY, 1955; MONTGOMERY & MONKMAN, 1955). O modelo idealizado por Montgomery, passou por uma padronização para a forma pela qual nós utilizamos atualmente (PELLOW *et al*, 1985).

Elaborada a partir de uma modificação do labirinto em cruz elevado convencional, a esQUIVA discriminativa no labirinto em cruz elevado (ED) é um aparato para testar aprendizado e memória, ao mesmo tempo em que se avalia a ansiedade. Nele roedores são condicionados a escolher entre dois braços fechados (um aversivo e outro não-aversivo) enquanto se esquivam dos braços abertos do aparato. Este aparato foi proposto como um modelo efetivo de aprendizado e memória desde que os efeitos de drogas amnéticas e reforçadoras da memória foram demonstrados neste paradigma (SILVA *et al*, 1997; SILVA & FRUSSA-FILHO, 2000).

A relação entre memória e aspectos negativos da emoção tem sido extensivamente investigada através de modelos animais de memória aversiva (LEDOUX, 2000; MCGAUGH, 2004; SILVA & FRUSSA-FILHO, 2000). Alguns estudos têm mostrado que medo e memória não seriam apenas fenômenos relacionados, mas a ansiedade (sensação subjetiva relacionada ao medo) seria de fato um passo necessário para a formação da memória (BEUZEN & BELZUNG, 1995; SILVA & FRUSSA-FILHO, 2000).

A ED vem sendo utilizada para a avaliação concomitante de aprendizado/memória e ansiedade. Nessa tarefa, os animais são condicionados a escolher entre dois braços fechados, um aversivo (AV) e um não-aversivo (NAV), enquanto evita os braços abertos (AB) do aparato. Além de ser um modelo útil para estudar aprendizado/memória, a ED também fornece informação simultânea sobre o nível de ansiedade dos mesmos animais, avaliado pelo tempo gasto nos braços abertos do aparato. Fármacos ansiolíticos e ansiogênicos já foram testados, validando o modelo para essa avaliação (SILVA *et al*, 2002). A este respeito, conforme já mencionado, parece

haver uma relação próxima entre memória e ansiedade (SILVA *et al*, 1997; SILVA & FRUSSA-FILHO, 2000).

Quando comparado com outros modelos de aprendizado associativo, como tarefas de esquiva passiva e ativa, as alterações na atividade motora devem ser uma questão metodológica menos crítica quanto à interpretação do desempenho de animais testados na esquiva discriminativa em labirinto em cruz elevado, visto que a retenção é avaliada pelo tempo gasto no braço aversivo comparado ao braço não aversivo, diminuindo a influência das diferenças individuais dos animais.

1.5. Efeitos do lítio na ansiedade

Pacientes bipolares no estado maníaco frequentemente exibem baixos níveis de ansiedade, maior tomada de riscos e maior impulsividade (STEINER, 1972). A ansiedade aumentada em ratos tratados com lítio foi demonstrada no labirinto em cruz elevado convencional, onde ratos tratados com lítio durante a fase juvenil mostraram aumento nas medidas de ansiedade no campo aberto e no labirinto em cruz elevado (YOUNGS *et al*, 2006).

Todavia, muitos estudos sugerem que lítio pode diminuir a ansiedade em ratos adultos (BARRATT *et al*, 1968; GAMBARANA *et al*, 1999; HINES, 1986; HINES & POLING, 1984; MASI *et al*, 2000; ROYBAL *et al*, 2007; SYME & SYME, 1974), o que pode impedir o aprendizado aversivo e ser evidenciado como piora no desempenho de memória (NOCJAR *et al*, 2007). Além disso, estudos recentes relatam a ausência de efeitos do tratamento sub-crônico com lítio na resposta de congelamento condicionada (TSALTAS *et al*, 2007). Por

outro lado, o lítio potencializa efeitos ansiolíticos de vários antidepressivos de maneira dose-dependente (KITAICHI *et al*, 2006).

1.6. Efeitos do lítio na depressão

A depressão é um distúrbio neuropsiquiátrico severo que engloba componentes do TB e também do transtorno depressivo unipolar. O transtorno depressivo maior é mais comum do que o TB na população mundial (GOULD *et al*, 2008). Sugere-se que o lítio tenha um efeito potencializador da ação de outros antidepressivos. No entanto, o efeito antidepressivo do lítio permanece controverso (NIERENBERG *et al*, 1990; SCHOU, 1968). Inicialmente, assumiu-se que o lítio teria um efeito antidepressivo pequeno, porém sua eficácia antidepressiva tem sido sustentada por muitos estudos (KATONA & ROBERTSON, 1997; WORRALL *et al*, 1979). Alguns estudos mostraram, inclusive, que o lítio seria tão eficaz quanto antidepressivos convencionais (KLEINDIENST & GREIL, 2003; SOARES & GERSHON, 1998). Além disso, demonstrou-se que o lítio poderia exercer um efeito do tipo antidepressivo em uma variedade de modelos animais de depressão como o teste de suspensão pela cauda (TSC) (CRYAN *et al*, 2002; GOULD *et al*, 2008) e desamparo aprendido (DA) (FARIA & TEIXEIRA, 1993; TEIXEIRA *et al*, 1995).

No teste do nado forçado (NF), a exposição de roedores a um estímulo estressor resulta em um período inicial de vigorosa atividade, seguida de um aumento na quantidade de imobilidade. O nível de imobilidade mensurável é considerado como a representação de “desamparo aprendido” (PORSOLT *et al*, 1977) que é atenuado pelo tratamento com antidepressivos efetivos, já conhecidos pela literatura (BOURIN *et al*, 2005; EINAT *et al*, 1999; O'BRIEN *et*

al, 2004; PORSOLT *et al*, 1977). Um recente estudo mostrou que o lítio nas concentrações séricas de 1,3 e 1,4 mmol/l levou a uma redução do tempo de imobilidade no TNF, mas esse efeito não foi observado na concentração de 0,8 mmol/l, sugerindo que os efeitos do lítio em camundongos na natação forçada são dose-dependentes (BERSUDSKY *et al*, 2007). A administração de lítio de longa e curta duração promoveu efeitos antidepressivos robustos em camundongos (GOULD *et al*, 2008).

A hipótese do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) da depressão postula que a queda de BDNF é diretamente envolvida na fisiopatologia da depressão e que a sua restauração pode estar por trás da eficácia terapêutica de tratamentos antidepressivos (MANJI *et al*, 2013). De fato, foi encontrado um aumento do nível sérico de BDNF em pacientes com depressão aguda (RICKEN *et al*, 2013). Lu e colaboradores (2014) sugerem que déficits na sinalização do BDNF podem contribuir para a patogênese de uma série de doenças como Huntington, Alzheimer e depressão.

O BDNF também demonstra interagir sinergicamente na atividade neuronal e na plasticidade sináptica, sendo o regulador essencial de processos celulares que estão por trás dos processos cognitivos e comportamentos complexos (Lu *et al*, 2014). Estudos mostram que o BDNF está relacionado com o aumento e manutenção da LTP, aumento em longo prazo da plasticidade sináptica que é a base para ocorrência de aprendizado e memória (DIÓGENES *et al*, 2011; SANTI *et al*, 2006).

1.7. Influência do lítio na expressão de BDNF

Um dos mais importantes mediadores da sobrevivência celular é BDNF, a neurotrofina mais amplamente distribuída no sistema nervoso central. Sabe-se que ele exerce efeito crítico na sobrevivência neuronal, crescimento neurítico, diferenciação neuronal, plasticidade sináptica e reparação de nervos (LU *et al*, 2014). Consistente com essas funções no cérebro sugeriu-se que o BDNF tem um importante papel na fisiopatologia e tratamento do TB (KAPCZINSKI *et al*, 2008; POST, 2007). Vários estudos têm examinado os níveis periféricos de BDNF em pacientes com TB e o efeito do tratamento farmacológico. Eles encontraram que o seu nível foi reduzido em pacientes durante os estados maníaco (CUNHA *et al*, 2006; MACHADO-VIEIRA *et al*, 2007; PALOMINO *et al*, 2006), depressivo (CUNHA *et al*, 2006) e eutímico (MONTELEONE *et al*, 2008). Além disso, um estudo mostrou níveis diminuídos de BDNF no estado maníaco, que foi recuperado depois que os pacientes receberam tratamento com drogas estabilizadoras do humor (lítio associado a antipsicóticos e anticonvulsivantes) (TRAMONTINA *et al*, 2009). Devido à consistência desses achados, BDNF tem sido considerado um dos mais importantes mediadores de sobrevivência celular no TB (KAPCZINSKI *et al*, 2008). Estudos pré-clínicos têm demonstrado que o tratamento crônico com lítio ou valproato (medicamentos de primeira linha para o tratamento do TB) também são capazes de aumentar a expressão do BDNF no córtex frontal e hipocampo (EINAT *et al*, 2003; FUKUMOTO *et al*, 2001).

2. OBJETIVOS

- Avaliar os efeitos do tratamento crônico e agudo com lítio na memória aversiva e ansiedade, bem a possível relação entre esses dois fenômenos;
- Verificar o efeito do tipo antidepressivo deste fármaco nesses mesmos protocolos de tratamento;
- Avaliar a influência do tratamento crônico com lítio na expressão de BDNF em estruturas relacionadas à memória (córtex pré-frontal e hipocampo) e emoção (amígdala).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais e procedimentos gerais

Ratos Wistar de 3-4 meses de idade, provenientes da nossa própria colônia, foram alojados sob condições de temperatura (22-24 °C) e iluminação (12 h claro: 12 h escuro, com luzes ligando às 06h30) controladas. Água e comida foram disponibilizadas *ad libitum* ao longo de todo o experimento. Antes de todos os procedimentos experimentais, todos os animais foram manipulados por 10 minutos/dia durante 3 dias. Em todos os experimentos os animais foram observados em ordem aleatória. Depois de cada sessão na ED, o aparato foi limpo com solução de álcool 5%. Entre cada sessão do NF a água do cilindro foi trocada. As sessões foram gravadas por câmera digital colocada acima do aparato e os parâmetros comportamentais foram registrados por um software de rastreamento por vídeo (Anymaze, Stoelting, USA).

Os ratos foram manipulados de acordo com as diretrizes para o uso de animais em pesquisa da Sociedade Brasileira de Neurociência e

Comportamento, e todos os experimentos foram aprovados pelo comitê de ética local (Protocolo nº 005/2011). Todos os esforços foram feitos para minimizar dor, sofrimento ou desconforto dos animais.

3.2. Drogas

Ratos foram tratados com carbonato de lítio (Carbolitium[®] – Eurofarma, São Paulo, Brazil) 50, 100 ou 200 mg/kg ou seu veículo de diluição (0,1 ml tween 20/1 ml salina), intraperitonealmente, em um volume de injeção correspondente a 1ml/kg.

3.3. Experimento I: tratamento agudo

Neste estudo, 43 ratos Wistar machos de 3-4 meses pesando entre 250g-350g foram submetidos ao tratamento com carbonato de lítio nas doses de 50 mg/kg (n=13), 100 mg/kg (n=6) e 200 mg/kg (n=6) ou veículo (n=18), 1 hora antes do treino na tarefa da esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado (ED). Outros 30 animais foram submetidos ao mesmo tratamento nas doses de 50 mg/kg (n=10) e 100 mg/kg (n=9) ou veículo (n=11) 1 hora antes da sessão de teste do NF. Ambas as tarefas consistem em duas sessões, uma de treino e uma de teste. Foi realizada coleta de sangue dos animais uma hora após a última sessão comportamental.



Figura 1. Ilustração esquemática do delineamento experimental do experimento I para a ED (A) e para o NF (B).

3.4. Esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado

O aparato empregado é um labirinto em cruz elevado modificado feito de madeira contendo dois braços fechados (50 x 15 x 40 cm) opostos a dois braços abertos (50 x 15 cm). Uma lâmpada e duas caixas de som foram posicionadas acima de um dos braços fechados (braço fechado aversivo). Duas sessões comportamentais foram realizadas em cada experimento. Durante a sessão de treino, os ratos eram posicionados individualmente no centro do aparato, voltados para a intersecção entre os braços abertos e, por um período de 10 minutos, toda vez que o animal entrou o braço aversivo, um estímulo aversivo foi produzido até que o animal deixasse o braço. O estímulo aversivo era uma luz de 100 W e um ruído branco de 80 dB. A sessão teste foi realizada 24 horas depois do condicionamento. Neste teste, os ratos eram expostos novamente ao aparato por 10 minutos, sem receber o estímulo aversivo.

Na sessão de treino, o aprendizado foi avaliado pela diminuição na porcentagem de tempo no braço fechado aversivo $[(\text{tempo gasto no braço fechado aversivo} / \text{tempo gasto nos dois braços fechados}) \times 100]$. Na sessão teste, a memória foi avaliada pela porcentagem de tempo gasto no braço fechado aversivo, bem como a discriminação entre os braços AV e NAV.

Além disso, o comportamento do tipo ansioso e a atividade locomotora foram avaliados pela porcentagem de tempo nos braços AB $[(\text{tempo gasto nos braços abertos} / \text{tempo gasto nos braços abertos} + \text{braços fechados}) \times 100]$ e a distância total percorrida no aparato, respectivamente. Distância total percorrida, porcentagem de tempo gasto nos braços fechados e porcentagem de tempo gasto nos braços AB foram registrados minuto a minuto ao longo das

sessões e utilizados para avaliar atividade motora, aprendizado/memória e ansiedade, respectivamente.

3.5. Nado forçado

Os animais foram colocados individualmente em um recipiente cilíndrico de acrílico transparente (61,5 x 44 x 47 cm) contendo uma coluna de 50 cm de água de torneira à 25 ± 1 °C. Esta profundidade foi suficiente para garantir que os animais não pudessem escapar ou tocar o fundo com a cauda. A tarefa consiste em duas sessões comportamentais. Na primeira, o animal permanece 15 minutos no cilindro e na segunda, depois de 24 horas, é realizado um teste de 5 minutos de duração. No final de cada sessão, os ratos foram removidos da água, secados com toalha, colocados em uma gaiola aquecida com maravalha por 15 minutos e devolvidos às suas gaiolas de origem. A água do cilindro foi trocada depois de cada sessão. As sessões foram gravadas pela lateral do cilindro e manualmente analisadas. Foram contabilizados o tempo total de imobilidade (flutuação com apenas movimentos mínimos necessários para manter a cabeça acima da água), a latência para o primeiro período de imobilidade, tempo de escalada (definida como movimentos para cima com as patas dianteiras ao longo das paredes do cilindro) e latência para a primeira escalada.

3.6. Experimento II: tratamento crônico

Foram utilizados 30 ratos Wistar machos de 3-4 meses pesando entre 250g-350g e submetidos ao tratamento com carbonato de lítio nas doses de 50 mg/kg (n=10) ou 100 mg/kg (n=9) ou veículo (n=11) durante 21 dias antes do

início das tarefas comportamentais. Primeiro foi realizada a ED e, após um intervalo de um dia, realizou-se o teste do NF. O tratamento com lítio foi mantido até o final dos experimentos comportamentais, sendo administrado após o término de cada sessão. Após a última sessão comportamental, foi realizada a última injeção de lítio ou veículo e após 12 horas foi realizada a coleta de sangue para quantificação de lítio sérico e perfusão para obtenção dos encéfalos para quantificação de BDNF.

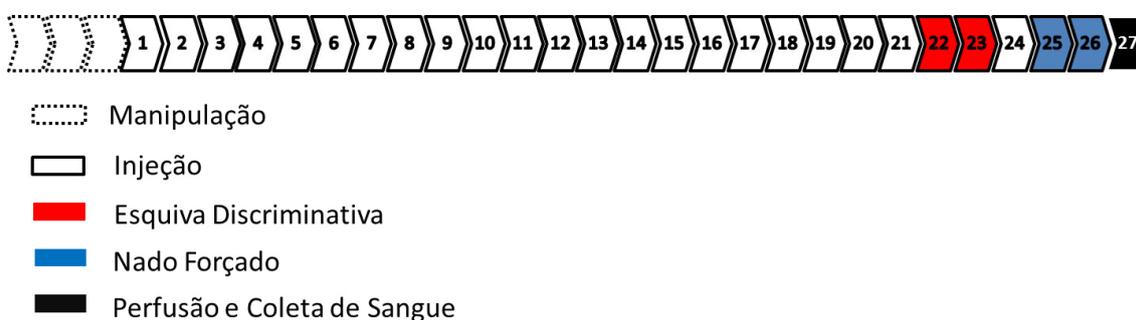


Figura 2. Ilustração esquemática do delineamento experimental do experimento II.

3.7. Dosagem sérica de lítio

Foram coletadas amostras de sangue dos animais num volume de 1 ml e armazenadas em tubos ependorf. A amostra foi coletada antes da perfusão transcardíaca, após a abertura da cavidade torácica, através da punção da artéria aorta. A coleta do sangue no experimento agudo foi realizada 26 horas após a injeção e no experimento crônico 12 horas após a última injeção. A litemia (concentração de lítio no soro) foi aferida no laboratório de análises clínicas de Natal/RN (Centro de Patologia Clínica), através do aparelho AVL 9180 (Roche) que utiliza o método do eletrodo íon seletivo.

Wood e colaboradores (1986) determinaram o perfil farmacocinético do lítio em ratos e camundongos. Eles observaram que o tempo de meia vida

deste fármaco em ratos é de 6 horas, ou seja, é menor do que o encontrado para a manutenção da terapia em humanos, que é por volta de 24 horas. O nível terapêutico e de manutenção do lítio já é bem estabelecida e fica entre 0,5 a 1,2 mEq/L (GELENBERG et al, 1989) e a eliminação do lítio em ratos ocorre em torno de 48 horas (OTA et al, 2013).

3.8. Análises Histológicas

3.8.1. Perfusão e processamento do cérebro

Ao final do tratamento e testes comportamentais, os animais foram anestesiados com tiopental na dose de 50 mg/kg. Com o animal completamente anestesiado com sobredose de anestésico e imobilizado, realizou-se um acesso à cavidade torácica seccionando-se a pele e partes moles, expondo a cavidade abdominal e fazendo-se a incisão do músculo diafragma para que o coração fosse exposto. Posteriormente foi feita a inserção no ventrículo esquerdo de uma agulha através do ápice do ventrículo, posicionando-a na direção da aorta, seguindo-se de uma pequena incisão no átrio direito. Um volume de 150 ml de solução salina 0,9% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4 heparinizado 0,2% foi injetado com auxílio de uma bomba peristáltica. Em seguida, foram injetados 150 ml de uma solução de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4. Após a perfusão, os cérebros foram removidos através de craniotomia e mergulhados solução de pós-fixação (sacarose em paraformaldeído 30%) por 4 horas. Depois dessa lavagem, os cérebros foram crioprotetidos por mais 72 horas em sacarose 30%, também a 4°C. As secções foram obtidas por congelamento em criostato de deslizamento (Leica, ALEMANHA), obtendo-se secções frontais de 30µm,

as quais foram distribuídas em 5 compartimentos, em um meio líquido contendo solução anticongelante. Cada um desses compartimentos corresponde a 1 de 5 secções, de maneira que a distância entre uma secção e a seguinte seja de aproximadamente 150 µm. Estes cortes foram armazenados em uma solução anticongelante à base de etilenoglicol e tampão fosfato e posteriormente conservados a -20°C até as reações de imunohistoquímica.

3.8.2. Imunohistoquímica para fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF)

As secções de um compartimento de cada animal foram lavadas 5 vezes (por 5 minutos) com tampão fosfato (PB) 0,1 M, pH 7,4, sob agitação automática, e pré-tratadas com peróxido de hidrogênio a 0,3% em PB por 20 minutos para inativação da peroxidase endógena. Após a lavagem, foi realizado um tratamento com encubação por uma hora em solução de triton-X 100 e 2% de BSA. Os cortes foram colocados em contato com o anticorpo primário coelho anti-BDNF (1:1000, Santa Cruz), para a marcação de BDNF. Estes foram diluídos em PB contendo Triton-X 100 a (ICN Biomedicals) 0,4% e de BSA (Sigma Chemical Company). Em seguida, as secções foram colocadas em contato com o anticorpo secundário biotilado (cabra anti-coelho), na concentração de 1:1000, diluído em Triton-X 100 a 0,4%, por 120 minutos. Após esta etapa, os cortes foram incubados numa solução contendo avidina e biotina (2% da solução total) mais Triton-X 100 NaCl, por 120 minutos. Para visualizar a reação, os cortes foram colocados em contato com um cromógeno, a diaminobenzidina (DAB) (Sigma, St Louis, MO, USA) a 2,5%, diluída em PB

(0,1M / pH 7,4). Entre cada uma das etapas, quatro lavagens do tecido de (5 minutos cada) com PB a 0,1 M e pH 7,4 foram realizadas.

Os cortes foram montados em lâminas gelatinizadas, secas em temperatura ambiente, e posteriormente mergulhadas em uma solução de tetróxido de ósmio a 0,05%, por 30 segundos, para intensificação da reação.

A avaliação dos resultados imunohistoquímicos foi feita com o auxílio de um microscópio óptico (Olympus, BX-41) utilizando campo claro ou escuro conforme a necessidade. As imagens foram digitalizadas utilizando uma câmera (Nikon, DXM-1200) acoplada ao microscópio e conectada a um computador.

3.8.3. Avaliação da densitometria óptica relativa (DOR)

Para a análise da DOR as imagens foram obtidas em um mesmo momento, sem passar por qualquer modificação de brilho e contraste, uma vez que os valores em pixels encontrados em cada imagem correspondem à intensidade de marcação de determinada substância no tecido analisado. Cada animal foi representado por 4 imagens consecutivas para cada área. Usando o programa Image J (versão 1.46i, NIH). Para a análise do córtex pré-frontal medial (CPFm); das subregiões do hipocampo (HC), CA1 e CA3/GD; e da amígdala (AD) foi utilizada a demarcação de cada área. Na mesma imagem também foi selecionado um campo com pouca ou quase nenhuma marcação de BDNF no tecido, para representar a área controle. O número médio de pixels calculados nos campos de interesse foi subtraído do número de pixels da área controle no mesmo tecido e uma média foi obtida para as 4 imagens.

3.9. Análise estatística

A análise dos dados foi realizada através do programa SPSS versão 18. Todas as comparações entre os grupos em relação a parâmetros obtidos da duração total de cada sessão da ED (porcentagem de tempo no braço aversivo, porcentagem de tempo nos braços abertos e distância percorrida) foram realizados por ANOVA de uma via. Além disso, as análises em blocos e minuto a minuto ao longo das sessões foram realizadas através da ANOVA de medidas repetidas. A análise do tempo absoluto no braço aversivo comparado ao braço não-aversivo para ambos os tratamentos e sessões foi realizada através de teste t para amostras pareadas. As comparações entre grupos da duração total em ambas as sessões do NF (tempo de imobilidade e tempo de escalada) e os dados imunohistoquímicos foram também realizadas por ANOVA de uma via. O nível de significância foi estabelecido em $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Experimento I: tratamento agudo

Atividade locomotora:

A avaliação da distância percorrida mostrou uma crescente diminuição da locomoção (de acordo com o aumento da dose) na sessão de treino. A ANOVA de uma via revelou diferença significativa entre os grupos [$F(3,39)=6,752$; $p=0,001$] e o post hoc de Bonferroni mostrou que os grupos tratados na dose de 100 ($p=0,045$) e 200 mg/kg ($p=0,001$) apresentaram uma menor distância percorrida quando comparados ao grupo controle. Ainda, o grupo tratado com 200 mg/kg ($p=0,039$) também revelou uma diminuição desse parâmetro quando comparado ao grupo tratado com 50 mg/kg (**Figura 3**).

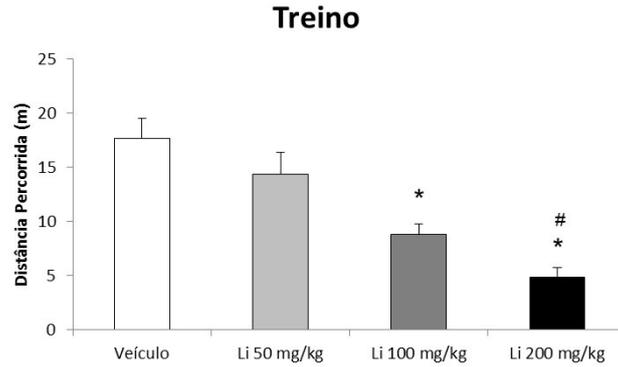


Figura 3. Média + erro padrão da média (EPM) da distância percorrida na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li; 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. * $p \leq 0,05$ comparado ao grupo veículo # $p \leq 0,05$ comparado ao grupo Li 50 mg/kg (ANOVA de uma via com post-hoc de Bonferroni).

Na sessão de teste a redução da distância percorrida permaneceu. A ANOVA de uma via revelou diferença entre os grupos [$F(3,39)=3,890$; $p=0,016$], porém o post hoc de Bonferroni só apontou diferença significativa entre os grupos 50 mg/kg e 100 mg/kg ($p=0,039$) (**Figura 4**).

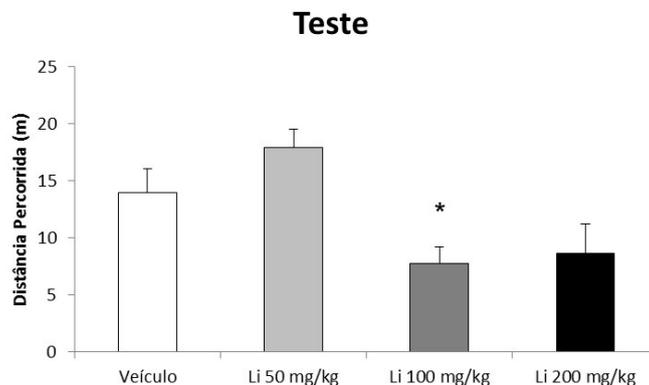


Figura 4. Média + EPM da distância percorrida na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li; 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de teste. * $p \leq 0,05$ comparado ao grupo Li 50 mg/kg (ANOVA de uma via com post-hoc de Bonferroni).

Além disso, ANOVA de uma via revelou diferença na velocidade dos animais [$F(3,39)=5,908$; $p=0,002$] na sessão de treino. Post-hoc de Bonferroni revelou redução da velocidade dos animais dos grupos tratados com 100 mg/kg ($p=0,029$) e 200 mg/kg ($p=0,005$) em relação ao grupo veículo. Na sessão de teste, ANOVA de uma via também revelou diferença significativa

[F(3,39)=4,161; p=0,012] e o post-hoc de Bonferroni apontou aumento no grupo tratado com 50 mg/kg em relação aos grupos tratados com 100 (p=0,041) ou 200 mg/kg (p=0,041) (**Tabela 1**).

Grupos	Treino	Teste
Veículo	0,029 ± 0,003	0,023 ± 0,003
Li 50 mg/kg	0,023 ± 0,003	0,030 ± 0,003
Li 100 mg/kg	0,014 ± 0,001 *	0,013 ± 0,002 #
Li 200 mg/kg	0,008 ± 0,001 *	0,014 ± 0,004 #

Tabela 1. Média + EPM da velocidade (m/s) dos ratos tratados com veículo ou lítio (Li; 50, 100 ou 200 mg/kg) na ED considerando o tempo total das sessões de treino e teste. *p≤0,05 comparado ao grupo veículo e p<0,05 comparado ao grupo Li 50 mg/kg (ANOVA de uma via com post-hoc de Bonferroni).

Foi realizada também a análise da taxa de habituação (distância percorrida no treino/teste) e não foi encontrada diferença significativa entre os grupos, embora houvesse uma tendência da taxa de habituação ser menor nos grupos tratados em relação ao controle [F(3,39)=2,63; p=0,064] (**Figura 5**).

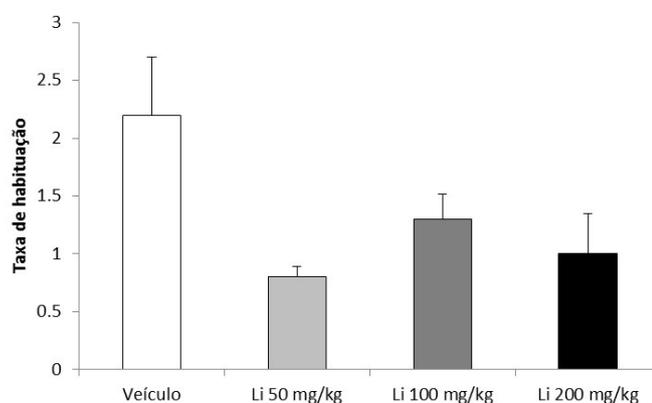


Figura 5. Média + EPM da taxa de habituação (distância percorrida no treino/distância percorrida no teste) na ED de ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg). ANOVA de uma via não revelou diferença significativa entre os grupos.

Aprendizado:

Na análise do tempo total da sessão de treino houve diferença significativa da porcentagem de tempo gasto no braço aversivo [F(3,39)= 4,91; p=0,005]. A análise post-hoc mostrou aumento desse parâmetro para o grupo

200 mg/kg com relação aos grupos veículo ($p=0,008$) e 50 mg/kg ($p=0,005$) (Figura 6).

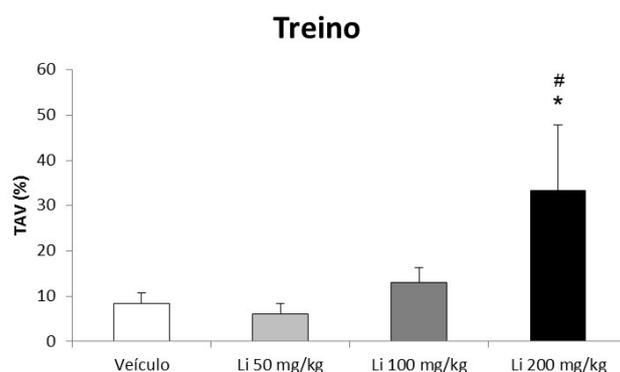


Figura 6. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto no braço aversivo na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. * $p\leq 0,05$ comparado ao grupo veículo # $p\leq 0,05$ comparado ao grupo Li 50 mg/kg (ANOVA de uma via com post-hoc de Bonferroni).

Além disso, a análise do tempo gasto no braço aversivo (TAV) comparado ao braço não-aversivo (TNAV) só indicou maior exploração do braço não-aversivo (NAV) para os grupos veículo ($t=7,41$; $df=17$; $p<0,001$) e 50 mg/kg ($t=9,37$; $df=12$; $p<0,001$) na sessão de treino (Figura 7).

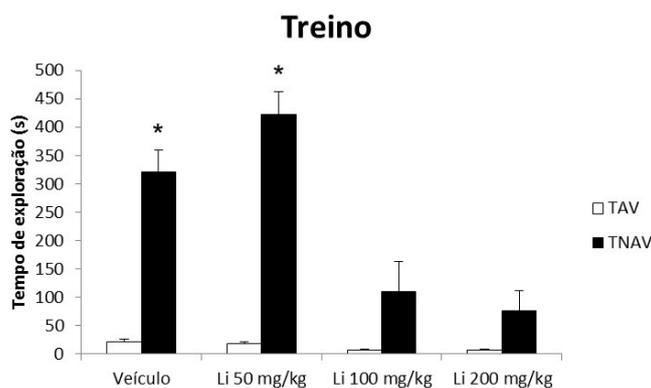


Figura 7. Média + EPM do tempo total gasto nos braços aversivo e não-aversivo na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. * $p\leq 0,05$ comparado ao TAV (teste t para amostras pareadas).

A análise em blocos de 200 segundos da porcentagem de tempo gasto do braço aversivo na sessão de treino revelou efeito do tempo [$F(3,39)=9,006$; $p=0,001$], interação tempo x tratamento [$F(3,39)=5,682$; $p<0,001$] e um efeito

marginalmente significativo do tratamento [$F(3,39)=2,598$; $p=0,066$]. ANOVA de uma via comparando os grupos em cada bloco separadamente revelou diferença no bloco 0-200s [$F(3,39)=5,200$; $p=0,004$] e 200-400s [$F(3,39)=3,920$; $p=0,015$], mas não no 400-600s [$F(3,39)=2,004$; $p=0,130$], considerando a correção de Bonferroni. No primeiro bloco, post-hoc de Bonferroni revelou aumento no grupo 200 mg/kg em relação aos grupos veículo ($p=0,039$), 50 ($p=0,006$) e 100 mg/kg ($p=0,008$); enquanto que no segundo bloco o post-hoc apontou aumento do grupo 100 mg/kg em relação aos grupos 50 ($p=0,022$) e 200 mg/kg ($p=0,028$) (**Figura 8**). Esse dado corrobora o resultado anterior para a porcentagem do tempo total no braço aversivo.

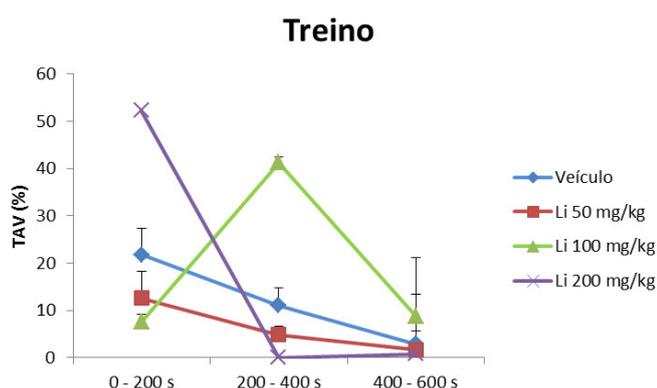


Figura 8. Média + EPM do tempo gasto no braço aversivo na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) ao longo da sessão de treino em blocos de 200 segundos. ANOVA de medidas repetidas revelou efeito do tempo e interação tempo x tratamento.

Realizamos ainda a análise do tempo médio de reação dos animais, que é o tempo total gasto pelo animal no braço aversivo (TAV) dividido pelo número de entradas no braço aversivo (EntAV), e não observamos diferença significativa [$F(3,39)=0,627$; $p=0,602$]. O tempo médio de reação nos informa o tempo que o animal leva para perceber o estímulo aversivo e reagir, saindo do braço durante a sessão de treino (**Figura 9**).

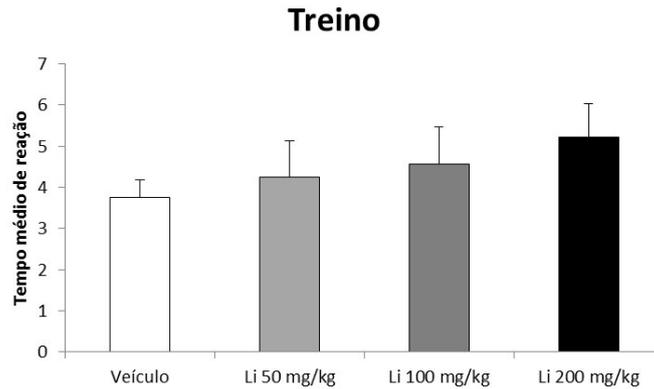


Figura 9. Média + EPM do tempo médio de reação (TAV/EntAV) na ED de ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

Memória:

Na análise do tempo total da sessão de teste não foi detectada diferença estatística entre os grupos [$F(3,39) = 1,335$; $p = 0,277$] (**Figura 10**).

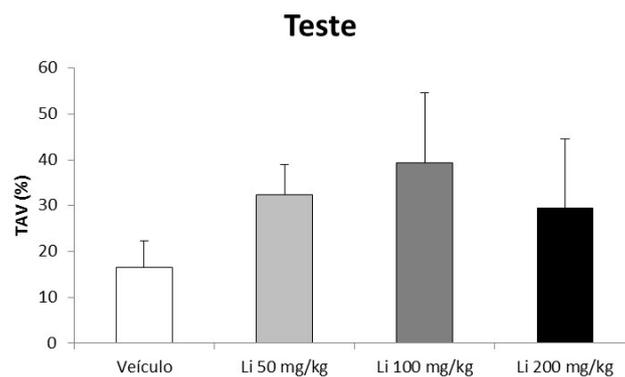


Figura 10. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto no braço aversivo na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de teste. ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

Assim como na sessão de treino, apenas os grupos veículo ($t = 4,02$; $df = 17$; $p = 0,001$) e 50 mg/kg ($t = 2,40$; $df = 12$; $p = 0,033$) apresentaram diferença entre o tempo de exploração dos braços fechados, mostrando uma maior exploração do NAV em relação ao AV durante a sessão de teste. O grupo tratado com 100 mg/kg mostrou uma maior exploração do braço aversivo, no entanto a diferença não foi estatisticamente significativa (**Figura 11**).

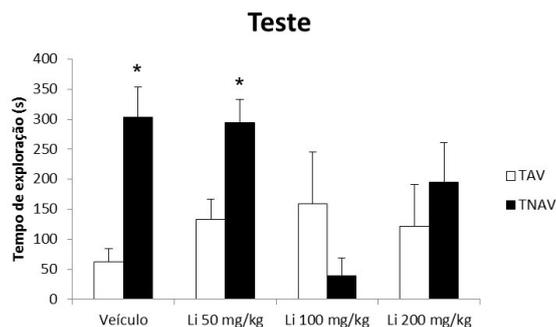


Figura 11. Média + EPM do tempo total gasto nos braços aversivo e não-aversivo na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de teste. * $p \leq 0,05$ comparado ao TAV (teste t para amostras pareadas).

A análise da porcentagem de TAV em blocos de 200 segundos ao longo da sessão de teste não revelou efeito do tempo [$F(3,39) = 1,462$; $p = 0,239$] ou do tratamento [$F(3,39) = 1,813$; $p = 0,161$], apenas interação tempo x tratamento [$F(3,39) = 3,324$; $p = 0,007$], no entanto ANOVA de uma via para comparar os grupos em cada bloco separadamente não mostrou diferença significativa nos blocos 0-200s [$F(3,39) = 2,185$; $p = 0,105$], 200-400s [$F(3,39) = 1,468$; $p = 0,238$] ou 400-600s [$F(3,39) = 2,460$; $p = 0,077$] (**Figura 12**).

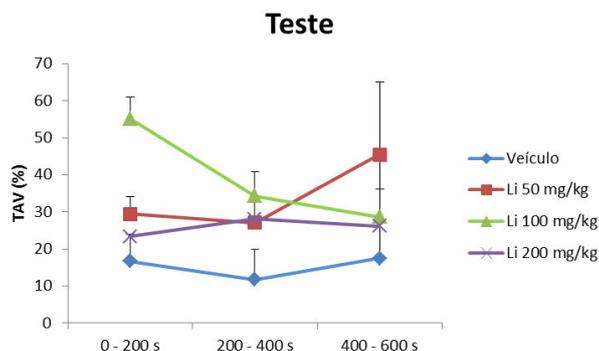


Figura 12. Médias + EPM da porcentagem de tempo gasto no braço aversivo na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) em blocos de 200 segundos ao longo da sessão de teste. ANOVA de medidas repetidas revelou interação tempo x tratamento.

Ansiedade:

A análise da porcentagem de tempo nos braços abertos na sessão de treino revelou diferença significativa [$F(3,39) = 14,95$; $p < 0,001$]. Análise post-hoc mostrou um aumento da exploração desses braços pelo grupo tratado com 100

mg/kg em relação aos grupos veículo ($p=0,01$) e 50 mg/kg ($p<0,001$) e do grupo tratado com 200 mg/kg em relação aos grupos veículo ($p<0,001$) e 50 mg/kg ($p<0,001$) (**Figura 13**).

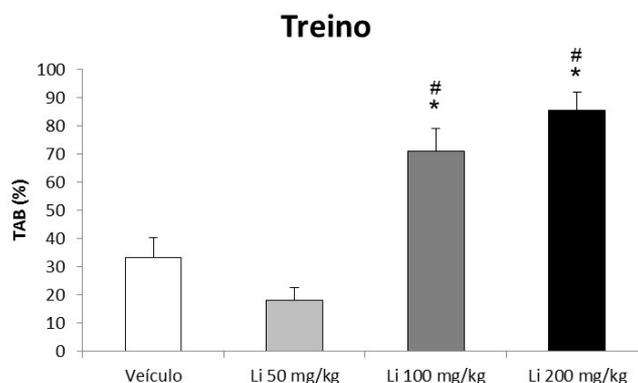


Figura 13. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto nos braços abertos na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. * $p\leq 0,05$ comparado ao grupo veículo # $p\leq 0,05$ comparado ao grupo Li 50 mg/kg (ANOVA de uma via com post-hoc de Bonferroni).

A fim de verificar se há relação do efeito ansiolítico com o efeito hipolocomotor, analisamos a distância percorrida pelo animal nos braços abertos (DistAB), mas ANOVA de uma via não apontou diferença significativa em ambas as sessões de treino [$F(3,39)=2,146$; $p=0,110$] (**Figura 14A**) e teste [$F(3,39)=2,705$; $p=0,058$] (**Figura 14B**).

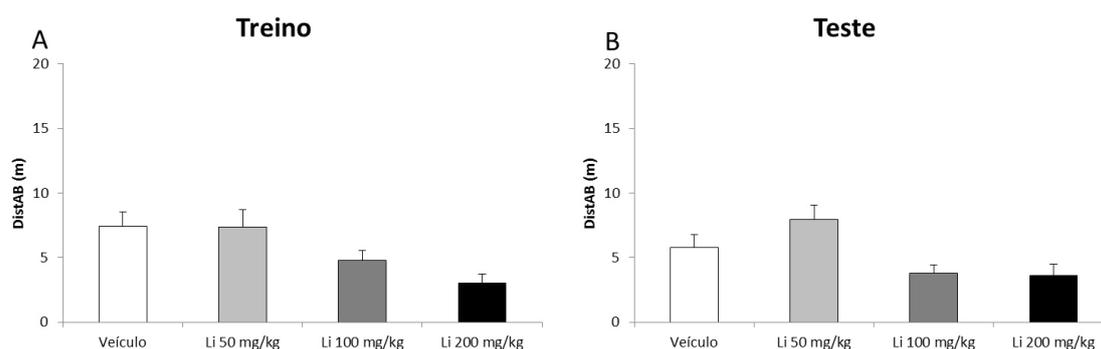


Figura 14. Médias + EPM da distância percorrida nos braços abertos na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) nas sessões de treino (A) e teste (B). ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

O número de entradas nos braços abertos também foi avaliado, no entanto, ANOVA de uma via não detectou diferenças estatísticas entre os

grupos tanto para a sessão de treino [F(3,39)=1,028; p=0,391] (**Figura 15A**) quanto para a sessão de teste [F(3,39)=0,426; p=0,736] (**Figura 15B**).

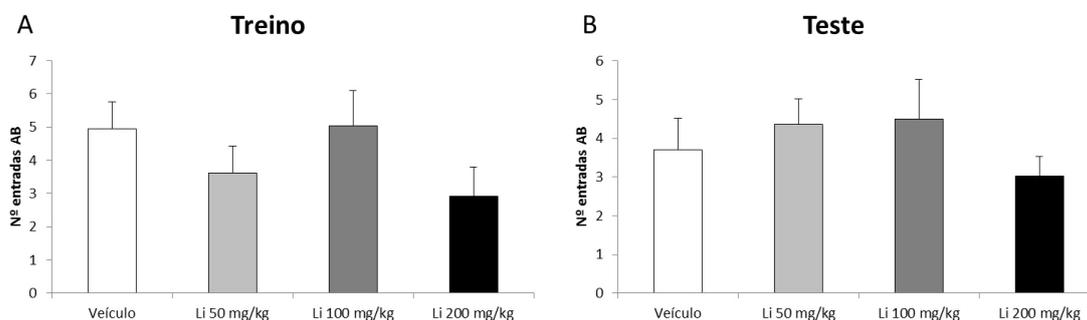


Figura 15. Médias \pm EPM do número de entradas nos braços abertos na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (50, 100 ou 200 mg/kg) nas sessões treino (A) e teste (B). ANOVA de uma via não revelou diferenças significativas entre os grupos.

Ao analisar a sessão de teste, foi observado que a diferença na taxa de exploração dos braços abertos persistiu [F(3,39)= 2,94; p=0,045]. Post-hoc revelou diferenças entre os grupos 50 mg/kg e 100 mg/kg (p=0,04) (**Figura 16**).

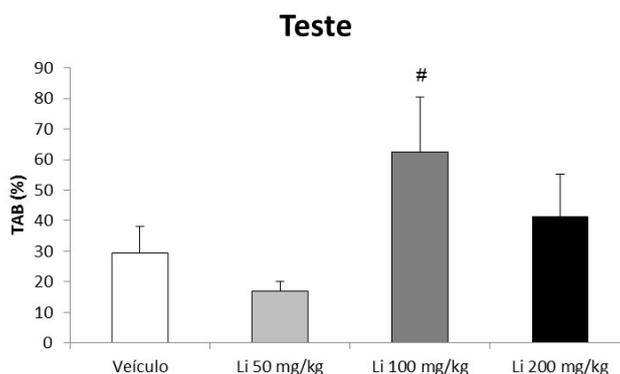


Figura 16. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto nos braços abertos na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão teste. [#]p \leq 0,05 comparado ao grupo Li 50 mg/kg (ANOVA de uma via com post-hoc de Bonferroni).

Nado Forçado:

Para o nado forçado, não foram encontradas diferenças significativas no tempo de imobilidade [F(2,16)= 0,259; p=0,775] (**Figura 17A**) e tempo de escalada [F(2,16)= 0,98; p=0,395] (**Figura 17B**) na sessão de teste.

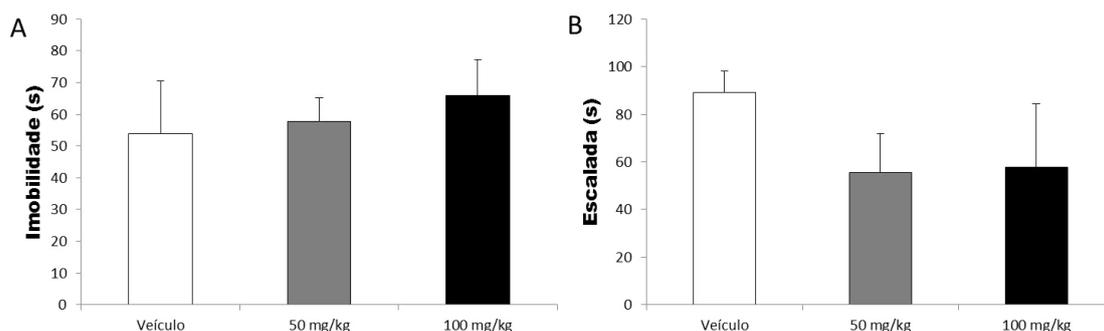


Figura 17. Média + EPM do tempo de imobilidade no NF de ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de teste. ANOVA de uma via não revelou diferenças entre os grupos.

Dosagem sérica:

A margem terapêutica do lítio varia de 0,5 a 1,2 mEq/l. Portanto, a dose sérica média de lítio após 26 horas da sua administração ficou dentro das concentrações terapêuticas apenas no grupo tratado com 200 mg/kg (**Tabela 2**). Entretanto, levando em consideração que o tempo de meia vida do lítio em ratos é de cerca de 6 horas (WOOD et al, 1986), provavelmente o grupo tratado com 100 mg/kg de lítio também deveria estar na dose terapêutica.

Grupos	Agudo (n)
Veículo	Indetectável (4)
Lítio 50	Indetectável (10)
Lítio 100	0.289 ± 0.035 (10)
Lítio 200	1.043 ± 0.159 (10)

Tabela 2. Média ± EPM da média da concentração de lítio no soro (mEq/l) de ratos após 26 horas da administração do fármaco.

4.2. Experimento II: tratamento crônico

Atividade locomotora:

Ao avaliarmos os parâmetros de locomoção, analisando o tempo total da sessão não encontramos diferenças significativas entre os grupos tanto para a sessão de treino [$F(2,27)=0,017$; $p=0,98$] (**Figura 18A**) quanto para a sessão de teste [$F(2,27)=0,478$; $p=0,625$] (**Figura 18B**).

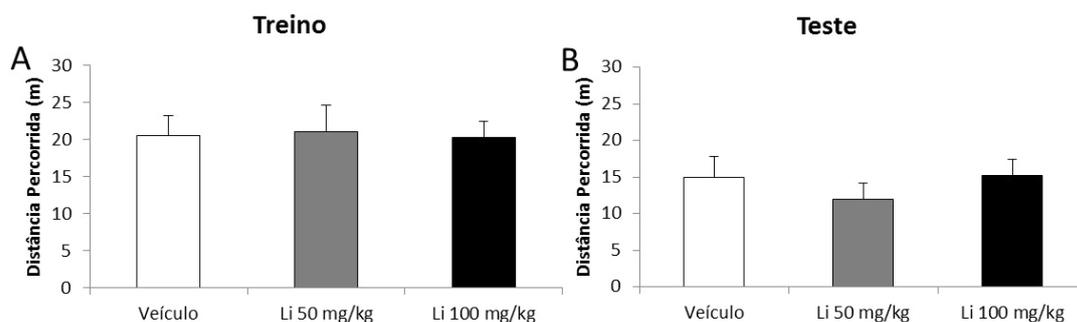


Figura 18. Média + EPM da distância percorrida na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total das sessões de treino (A) e teste (B). ANOVA de uma via não revelou diferenças entre os grupos.

Analisando a velocidade dos animais para percorrer o aparato, também não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos nas sessões de treino [$F(2,27)=0,024$; $p=0,976$] e teste [$F(2,27)=0,465$; $p=0,633$] (**Tabela 3**).

Grupos	Treino	Teste
Veículo	0,069 ± 0,009	0,072 ± 0,012
Li 50 mg/kg	0,108 ± 0,024	0,069 ± 0,016
Li 100 mg/kg	0,123 ± 0,060	0,094 ± 0,015

Tabela 3. Média ± EPM da velocidade (m/s) dos ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) na ED considerando o tempo total das sessões de treino (A) e teste (B). ANOVA de uma via não revelou diferenças entre os grupos.

Foi realizada também a análise da taxa de habituação (distância percorrida no treino/teste) e não foi encontrada diferença significativa entre os grupos [$F(2,27)=0,084$; $p=0,919$] (**Figura 19**).

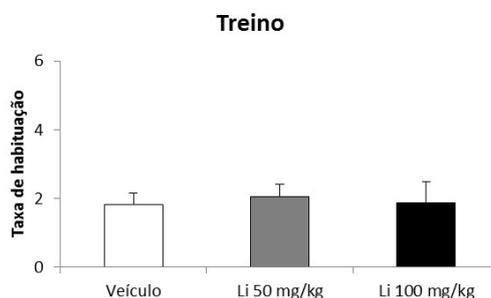


Figura 19. Média + EPM da taxa de habituação (distância percorrida no treino/distância percorrida no teste) na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg). ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

Aprendizado:

Analisando os parâmetros relacionados ao aprendizado, verificamos que houve aprendizado em todos os grupos, visto que não encontramos diferenças significativas entre os grupos na sessão de treino [$F(2,27)=0,124$; $p=0,884$] quando analisamos o tempo total da sessão (**Figura 20**).

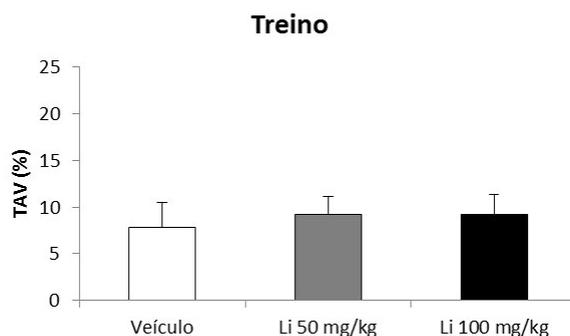


Figura 20. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto no braço aversivo na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

Teste t para amostras pareadas revelou uma redução da exploração do braço aversivo em relação ao não-aversivo nos grupos veículo ($t=-9,263$; $df=10$; $p<0,001$), 50 mg/kg ($t=-11,212$; $df=9$; $p<0,001$) e 100 mg/kg ($t=-9,067$; $df=8$; $p<0,001$), mostrando que todos os grupos conseguiram discriminar os braços fechados (**Figura 21**).

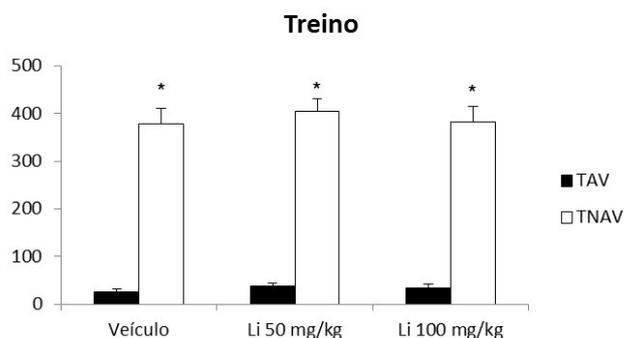


Figura 21. Média + EPM do tempo gasto no braço aversivo e tempo gasto no braço não-aversivo na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. * $p<0,05$ comparado ao TAV (teste t para amostras pareadas).

Analisando a sessão treino ao longo do tempo em blocos de 200 segundos, encontramos efeito do tempo [$F(2,27)=21,867$; $p<0,001$], sem efeito do tratamento [$F(2,27)=0,174$; $p=0,841$] ou interação tempo x tratamento [$F(2,27)=0,805$; $p=0,517$] (**Figura 22**). Dessa forma, observamos uma curva de aprendizado para todos os grupos, corroborando o resultado da discriminação dos braços fechados.

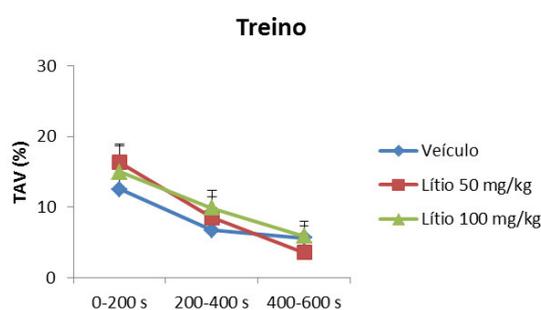


Figura 22. Médias + EPM da porcentagem de tempo gasto no braço aversivo na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) ao longo da sessão de treino em blocos de 200 segundos. ANOVA de medidas repetidas revelou efeito do tempo.

Realizamos ainda a análise do tempo médio de reação dos animais e não observamos diferença significativa [$F(2,27)=1,858$; $p=0,175$] (**Figura 23**).

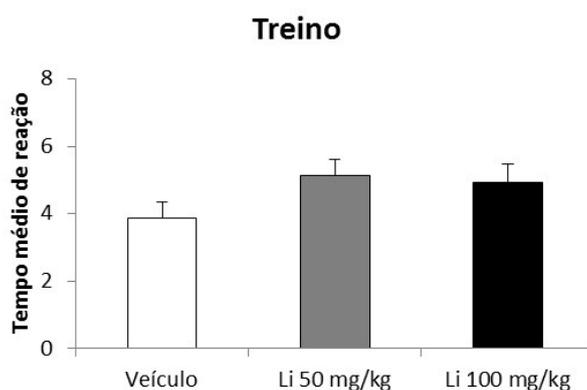


Figura 23. Média + EPM do tempo médio de reação (TAV/EntAV) na ED de ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

Memória:

Analisando os parâmetros de memória, verificamos que na sessão teste não houve diferença na porcentagem de TAV entre os grupos [$F(2,27)=0,414$; $p=0,665$] (**Figura 24**).

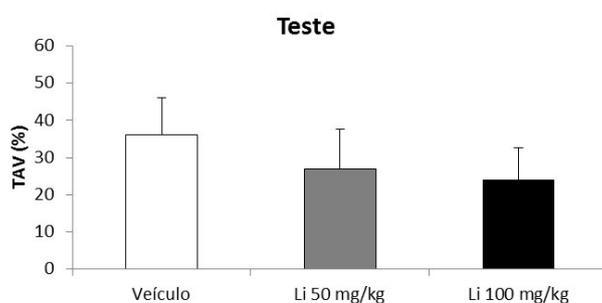


Figura 24. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto no braço aversivo na ED por ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de teste. ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

Teste t para amostras pareadas não revelou diferenças no tempo total de exploração do braço aversivo comparado ao não-aversivo para os grupos veículo ($t=-1,774$; $df=10$; $p=0,107$), 50 mg/kg ($t=-1,747$; $df=9$; $p=0,115$) e 100 mg/kg ($t=-2,953$; $df=8$; $p=0,018$), considerando a correção de bonferroni para $p<0,016$ (**Figura 25**).

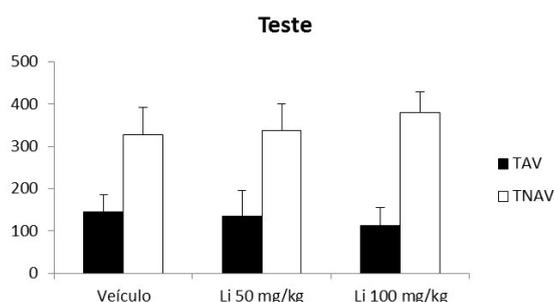


Figura 25. Média + EPM do tempo gasto no braço aversivo (TAV) e tempo gasto no braço não-aversivo (TNAV) na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de teste. Teste t para amostras pareadas não revelou diferença na exploração dos braços fechados em nenhum dos grupos.

ANOVA de medidas repetidas não revelou efeito do tempo [$F(2,27)=0,224$; $p=0,133$], do tratamento [$F(2,27)=0,325$; $p=0,725$] ou interação

tempo x tratamento [$F(2,27)=0,370$; $p=0,779$], quando analisamos a sessão teste dividida em blocos de 200 segundos (**Figura 26**).

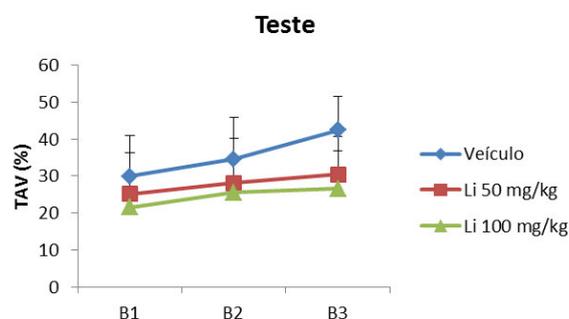


Figura 26. Médias + EPM da porcentagem de tempo gasto no braço aversivo na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50, 100 ou 200 mg/kg) ao longo da sessão de teste em blocos de 200 segundos. ANOVA de medidas repetidas não revelou diferença entre os grupos.

Ansiedade:

Analisando os parâmetros de ansiedade, ANOVA de uma via não revelou diferença significativa para a porcentagem de exploração dos braços abertos no tempo total da sessão de treino [$F(2,27)=0,594$; $p=0,559$] (**Figura 27**).

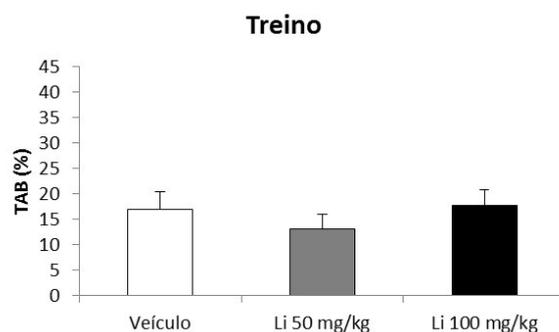


Figura 27. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto nos braços abertos na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de treino. ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

No entanto, ao analisarmos os cinco primeiros minutos dessa sessão, ANOVA de uma via revelou diferença significativa [$F(2,27)=4,332$; $p=0,023$] entre os grupos. Post-hoc de Tukey revelou uma diminuição da exploração dos braços abertos pelo grupo tratado com 50 mg/kg em relação ao grupo veículo

($p=0,037$) e redução marginalmente significativa em relação ao grupo tratado com 100 mg/kg ($p=0,051$) (**Figura 28**).

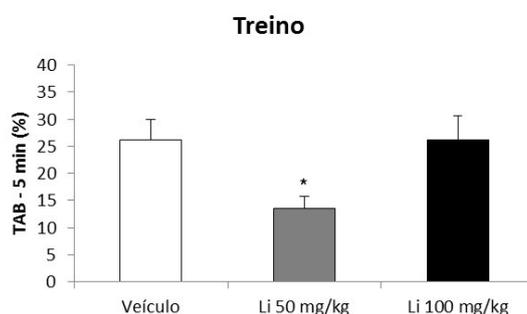


Figura 28. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto nos braços abertos na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando os 5 primeiros minutos da sessão de treino. * $p<0,05$ comparado ao veículo (ANOVA de uma via com post-hoc de Bonferroni).

Ao analisar a sessão de teste, não foi observada diferença na taxa de exploração dos braços abertos [$F(2,27)= 0,414$; $p=0,665$] (**Figura 29**).

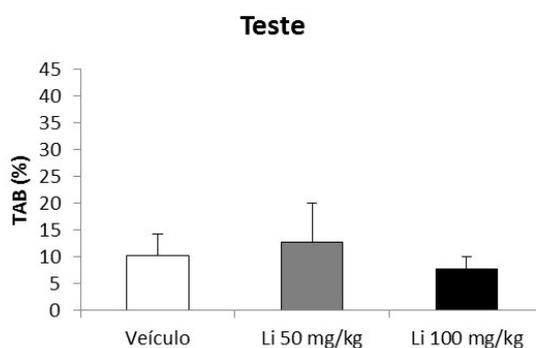


Figura 29. Média + EPM da porcentagem de tempo gasto nos braços abertos na ED por ratos tratados cronicamente com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de teste. ANOVA de uma via não revelou diferença entre os grupos.

Depressão:

Na avaliação do efeito antidepressivo do lítio, ANOVA de uma via não revelou diferenças significativas entre os grupos para tempo de imobilidade [$F(2,27)=0,032$; $p=0,969$] (**Figura 30A**) e de escalada [$F(2,27)=0,319$; $p=0,729$] (**Figura 30B**) na sessão de teste.

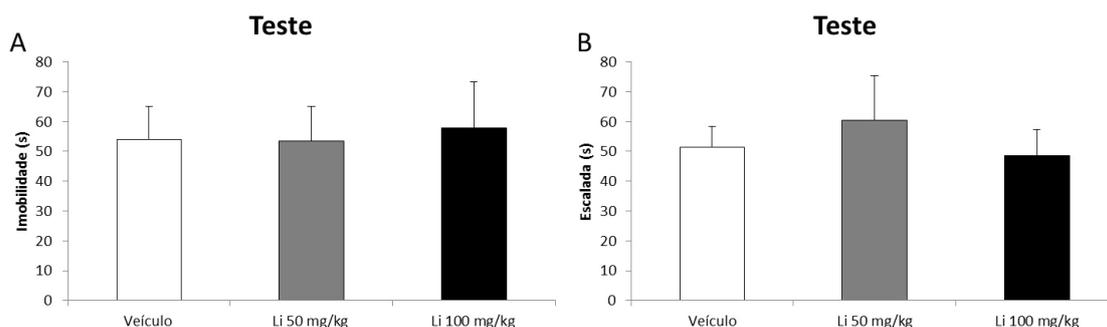


Figura 30. Média + EPM do tempo de imobilidade (A) ou de escalada (B) no NF de ratos tratados com veículo ou lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) considerando o tempo total da sessão de teste. ANOVA de uma via não revelou diferenças entre os grupos.

Expressão de BDNF:

Para expressão de BDNF nas subregiões do hipocampo CA1 [F(2,24)=1,146; p=0,335] e CA3/GD [F(2,24)=0,106; p=0,900], amígdala [F(2,24)=0,301; p=0,743] e córtex pré-frontal [F(2,25)=0,619; p=0,547] ANOVA de uma via não detectou diferenças significativas entre os grupos (**Tabela 4**).

Área	Veículo – (n)	Lítio (50 mg/kg) – (n)	Lítio (100 mg/kg) – (n)
CA1	14,87 ± 0,86 – (10)	13,39 ± 1,09 – (9)	15,70 ± 1,29 – (8)
CA3/GD	15,71 ± 1,28 – (10)	14,88 ± 1,63 – (8)	15,76 ± 1,55 – (9)
CPF	6,45 ± 0,93 – (9)	5,17 ± 0,87 – (10)	5,29 ± 0,84 – (9)
AM	5,10 ± 1,31 – (10)	3,70 ± 1,24 – (8)	4,65 ± 1,27 – (9)

Tabela 4. Densidade óptica relativa (DOR) dos níveis de BDNF nas regiões CA1, CA3/giro denteado (CA3/GD), córtex pré-frontal (CPF) e amígdala (AM) 12 horas após a 26ª injeção de carbonato de lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg) ou veículo. ANOVA de uma via não revelou diferenças significativas para os grupos em nenhuma das áreas analisadas.

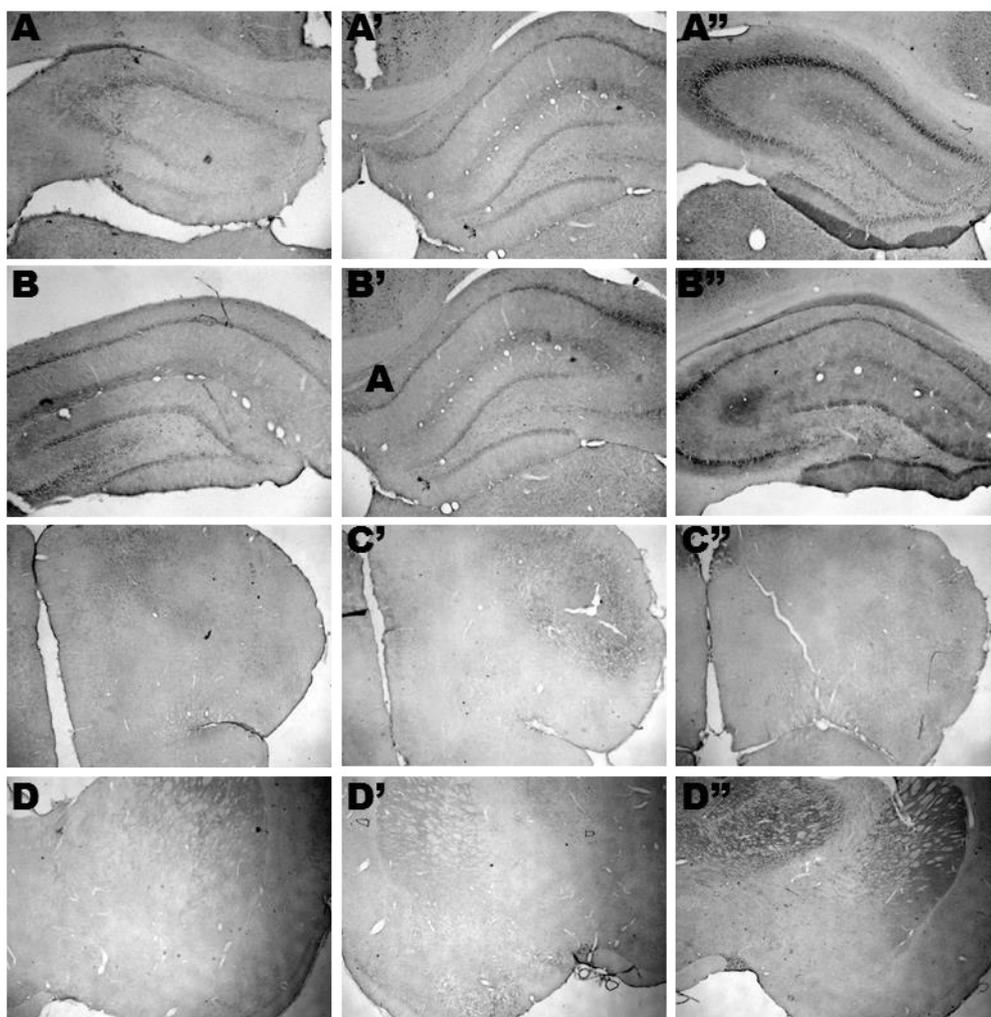


Figura 31. Fotomicrografias do encéfalo do rato com imunorreatividade para BDNF nos três grupos experimentais: veículo (A,B,C,D), lítio 50 mg/kg (A',B',C',D') e lítio 100 mg/kg (A'', B'', C'', D'').

Dosagem sérica:

A dose sérica média de lítio após 12 horas da última administração de lítio estava dentro da dose terapêutica apenas para o grupo tratado com 10 mg/kg (**Tabela 5**). A dose terapêutica é estabelecida com a coleta nesse período de tempo após a última administração da droga.

Grupos	Crônico (n)
Veículo	Indetectável (7)
Lítio 50	0.13 ± 0.007 (6)
Lítio 100	0.51 ± 0.058 (8)

Tabela 5. Média ± EPM da média da concentração de lítio no soro (mEq/l) de ratos após 12 horas da última administração de veículo ou carbonato de lítio (Li: 50 ou 100 mg/kg).

5. DISCUSSÃO

Neste estudo nós avaliamos o efeito agudo e crônico do tratamento com lítio no aprendizado/memória e ansiedade de ratos submetidos à tarefa da ED, versão modificada do labirinto em cruz elevado convencional, no qual uma situação aversiva é produzida em um dos braços fechados. Este paradigma foi validado pela avaliação concomitante de aprendizado/memória e comportamento do tipo ansiedade, sendo as medidas usadas para avaliar esses parâmetros a discriminação entre os braços fechados (AV e NAV) e a exploração dos braços abertos, respectivamente (MELO et al, 2012; MUNGUBA et al, 2011; RIBEIRO *et al*, 2010; SILVA & FRUSSA-FILHO, 2000).

Nossos resultados mostraram que, durante a sessão treino, animais tratados com lítio uma hora antes da sessão (tratamento agudo) com as doses de 100 e 200 mg/kg não aprenderam a tarefa, visto que os animais desses grupos falharam em discriminar os braços fechados (AV e NAV) (Figura 7) e, dessa forma, o tratamento interferiu na consolidação ocasionando a falha na evocação da memória aversiva na sessão teste para estes grupos (Figura 11). Por outro lado, o tratamento crônico não afetou de forma significativa o aprendizado, já que os animais conseguiram distinguir os braços fechados (Figura 21) e todos os grupos apresentaram uma curva de aprendizado (redução gradativa da exploração do braço AV) na sessão treino (Figura 22).

Todos os grupos evocaram a tarefa, visto que não encontramos diferenças significativas na porcentagem de TAV no tempo total (Figura 24) e na análise ao longo da sessão teste (Figura 26), indicando que o tratamento crônico com lítio não foi capaz de promover alterações no desempenho de ratos nesta tarefa. Embora os grupos aparentemente mostrem discriminação entre os braços fechados, esses resultados não são significativos (Figura 25), ao contrário dos animais controle no tratamento agudo (Figura 7). Uma provável explicação para essa diferença observada no grupo controle pode ser a extensiva manipulação do tratamento crônico. As injeções diárias podem ter causado estresse nos animais alterando o desempenho deles na tarefa. Entretanto, é importante observar que todos os grupos no tratamento crônico apresentaram respostas similares.

Alguns estudos mostram que a memória foi prejudicada ou inalterada pelo tratamento com lítio (HINES, 1985; HINES & POLING, 1984), enquanto outros realizados com diversos aparatos comportamentais mostram uma melhora na memória (NOCJAR *et al*, 2007; TSALTAS *et al*, 2007; VASCONCELLOS *et al*, 2003; YAN *et al*, 2007). Estes estudos mostram o efeito positivo do lítio em diferentes tipos de paradigmas como tarefas de memória de procedimento (TSALTAS *et al*, 2007), espacial (VASCONCELLOS *et al*, 2003; YAN *et al*, 2007) e aversiva (ZARRINDAST *et al*, 2008). A maioria dos estudos utilizando modelos animais até hoje avaliam a memória e têm usado tarefas aversivamente motivadas como o labirinto aquático de Morris, esquiva passiva ou ativa e outras (FERRARI *et al*, 2003; HINES, 1985; HINES & POLING, 1984; RICHTER-LEVIN *et al*, 1992; YAN *et al*, 2007). Estudos antigos utilizando procedimentos aversivos geralmente relatam déficits em decorrência do

tratamento com lítio (TSALTAS *et al*, 2009). Ratos sob tratamento sub-crônico com lítio demonstram um déficit persistente no aprendizado da esquiva ativa (RICHTER-LEVIN *et al*, 1992). No entanto, em estudos mais recentes, o tratamento crônico e sub-crônico com lítio demonstra uma melhora na aquisição da esquiva passiva (PASCUAL & GONZALEZ, 1995; TSALTAS *et al*, 2007) e não afeta o medo condicionado (TSALTAS, *et al* 2007).

Conforme mencionado, poucos estudos investigaram o efeito agudo ou subcrônico do lítio na memória, e também não mostraram um possível efeito benéfico, corroborando nossos resultados. Ao contrário, Shallie *et al* mostraram que a ingestão de lítio por uma semana provoca um declínio significativo no aprendizado e memória (SHALLIE *et al*, 2010). A administração aguda de lítio pré ou pós-treino teve um efeito prejudicial na memória na tarefa de esquiva inibitória (ZARRINDAST *et al*, 2006). A administração pré e pós treino prejudica a memória na esquiva passiva, enquanto a administração pré-teste reverte o prejuízo. Dessa forma, o lítio parece promover um aprendizado estado dependente. Esse dado corrobora nosso estudo visto que a avaliação do aprendizado e memória aversiva com tratamento agudo com lítio foi realizada após administração pré-treino, o que pode ter interferido na observação de melhora no aprendizado/memória.

Dessa forma, parece que é necessário um tratamento crônico (com um tempo igual ou superior a três semanas) para que a droga exerça efeito mnemônico positivo (PACHET & WISNIEWSKI, 2003).

No caso do presente estudo, entretanto, nem com o tratamento crônico foi observado uma melhora no aprendizado/evocação da tarefa. Apesar de a literatura ser rica em trabalhos que mostram o efeito benéfico do tratamento

crônico com lítio na memória (TSALTAS et al, 2007; NOCJAR et al, 2007; KARIMFAR et al, 2009), a maioria deles está vinculada a memória de outros tipos que não aquela aversivamente motivada. Muitos trabalhos que relatam o efeito crônico do lítio na memória aversiva não mostram nenhum efeito ou prejuízo na memória causado por esse fármaco (RICHTER-LEVIN et al, 1992; TSALTAS et al, 2009; CALZAVARA et al, 2011). Isso pode ser devido a diferenças no mecanismo de memórias com contexto emocional em relação às outras. Entre as estruturas cerebrais envolvidas no aprendizado e memória, foi mostrado que a amígdala participa no armazenamento de informações aversivas (CAHILL & MCGAUGH, 1990; DAVIS, 1992). Portanto, a memória com contexto emocional envolve a modulação da amígdala, enquanto que os outros tipos como, por exemplo, a memória espacial parece requerer maior processamento do hipocampo (RIBEIRO et al, 2011). Tendo em vista a sua ação no transtorno bipolar, esse efeito na memória aversiva seria mais plausível pelo fato de que a melhora na evocação de uma memória aversiva poderia ser prejudicial ao paciente portador deste distúrbio.

A amígdala parece ser um componente crítico dos circuitos cerebrais afetados pelo TB (CLARK & SAHAKIAN, 2008) e muitos pacientes apresentam variações estruturais nessa região (ALTSHULER *et al*, 1998; BLUMBERG et al, 2005b; BERRETTA *et al*, 2007; BEZCHLIBNYK *et al*, 2007). De fato, pacientes nas fases de mania e eutímia mostram um aumento na ativação da amígdala durante tarefas de discriminação emocional (ALTSHULER *et al*, 2005; LAGOPOULOS & MALHI, 2007) e os pacientes medicados mostram uma redução da ativação dessa estrutura (BLUMBERG *et al*, 2005a). Corroborando esse resultado, o tratamento com lítio foi capaz de prevenir o aumento da

ramificação dendrítica em neurônios piramidais da amígdala (JOHNSON *et al*, 2009). Portanto, o resultado apresentado pelo nosso estudo parece mostrar que o lítio não tem efeito ou prejudica a memória aversiva e que esse fato traria um efeito benéfico para o tratamento do transtorno bipolar.

O sistema dopaminérgico (receptores D1 e D2) parece ter papel importante no mecanismo do lítio na memória aversiva (ZARRINDAST *et al*, 2006, 2007 e 2008). Considerando que agonistas de receptores D1 e D2 têm efeito ansiogênico (BELZUNG *et al*, 2001; SIMON *et al*, 1993; ZARRINDAST, 2011), o prejuízo na memória aversiva causado pelo lítio poderia estar relacionado com esse sistema de neurotransmissão.

Outra possível explicação para a ausência de resultados significativos no aprendizado/memória é que provavelmente o lítio não tem efeito melhorador cognitivo proeminente em indivíduos saudáveis, visto que a maioria dos estudos que mostram esse efeito positivo na memória é realizada com animais submetidos a algum tipo de lesão farmacológica ou física, ou por indivíduos que já apresentam algum tipo de enfermidade com prejuízos mnemônicos como, por exemplo, Alzheimer ou isquemia cerebral (CASTRO *et al*, 2012; SADRIAN *et al*, 2012; ÁLVAREZ-RUIZ & CARRILLO-MORA, 2013; OTA *et al*, 2013). Possivelmente, a indução de amnésia nos animais por métodos farmacológicos pudesse revelar um efeito mais expressivo sobre a memória aversiva na tarefa da ED.

Em nosso estudo, o tratamento crônico com lítio não promoveu alterações na expressão de BDNF no hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal (Tabela 4). O efeito do tratamento com lítio como melhorador cognitivo, observado em estudos anteriores, está provavelmente relacionado a modificações neuronais

decorrentes do tratamento crônico. Entretanto, alguns estudos relatam que aumento da expressão de BDNF já ocorre 5 dias após o início do tratamento com lítio (HASHIMOTO et al, 2002).

Como já mencionado, o lítio demora cerca de 6 a 10 dias para exercer efeito no tratamento da mania e existem estudos que mostram que esse atraso é devido ao tempo necessário para que o BDNF retorne aos níveis neuroprotetores (EINAT et al, 2006).

De fato, vem sendo extensivamente demonstrado que o lítio tem efeito neuroprotetor (ROWE *et al*, 2004). Um estudo que avaliou os níveis de BDNF em pacientes de TB que respondem e que não respondem ao tratamento com lítio comparado a indivíduos saudáveis mostrou que os indivíduos que respondem tem os níveis de BDNF sérico e desempenho cognitivo semelhantes aos dos indivíduos saudáveis, enquanto os que não respondem apresentam déficits cognitivos e baixos níveis de BDNF no soro comparado ao grupo controle (RYBAKOWSKI et al, 2010). O lítio já se mostrou capaz de aumentar os níveis de BDNF no córtex pré-frontal e hipocampo (EINAT *et al*, 2003; FUKUMOTO *et al*, 2001). Além disso, foi demonstrado que pacientes com Alzheimer apresentam uma redução nos níveis de BDNF no soro e no encéfalo e que o tratamento com lítio é capaz de aumentar o nível sérico de BDNF nesses pacientes (LEYHE *et al*, 2009). Provavelmente, o aumento de BDNF nesses pacientes deve estar ligado ao efeito neuroprotetor do lítio prevenindo déficits cognitivos causados pela doença, visto que a redução do declínio cognitivo parece estar inversamente relacionado com a concentração de lítio no soro. Além disso, foi verificado o aumento da expressão de RNA mensageiro do BDNF pela associação de lítio e valproato (drogas utilizadas no

tratamento do transtorno bipolar) em um modelo de degeneração neuronal *in vitro* (CROCE, 2014).

Por outro lado, um estudo desenvolvido por Dias e colaboradores (2009) não identificou diferenças significativas entre os níveis de BDNF em pacientes portadores de TB eutímicos e indivíduos saudáveis. Além disso, os níveis de BDNF foram menores em pacientes medicados com lítio e antipsicóticos, enquanto pacientes tratados com valproato e outros antidepressivos mostraram níveis séricos de BDNF maiores (DIAS et al, 2009). Isto corrobora o estudo de 2008 que apontou uma redução nos níveis de BDNF de pacientes portadores de TB e voluntários saudáveis tratados com lítio (TSENG et al, 2008). Portanto, apesar de muitos estudos apontarem a participação do BDNF na fisiopatologia do TB e do mecanismo fisiológico do lítio, os resultados ainda permanecem controversos. Mais estudos são necessários para esclarecer o efeito do lítio na expressão de BDNF.

No que diz respeito aos efeitos na ansiedade, observou-se um aumento da exploração dos braços AB (Figura 13) pelos animais tratados agudamente com as doses de 100 e 200 mg/kg foi observado, sugerindo um efeito ansiolítico do tratamento agudo com o fármaco. Enquanto isso, o tratamento crônico apontou um efeito ansiogênico pelo fato dos animais tratados com 50 mg/kg apresentarem uma menor exploração dos braços abertos em relação aos outros grupos na sessão treino, quando analisamos os cinco primeiros minutos dessa sessão (Figura 28). Essa observação da primeira metade da sessão para avaliar a exploração dos braços abertos já foi realizada por Silva et al, 2000, mostrando resultados significativos, enquanto que a análise do tempo total da sessão não mostrava.

Vários estudos sugerem que o lítio pode diminuir a ansiedade em ratos adultos (BARRATT *et al*, 1968; GAMBARANA *et al*, 1999; HINES, 1986; HINES & POLING, 1984; MASI *et al*, 2000; ROYBAL *et al*, 2007; SYME & SYME, 1974), o que impediria a aprendizagem aversiva, sendo evidenciado como uma diminuição no desempenho da memória. Esse dado corrobora os resultados do experimento agudo, que revelou redução da ansiedade e déficit de aprendizado.

Um estudo realizado em 2006 por Youngs e colaboradores mostrou que o tratamento crônico com lítio por 21 dias promoveu aumento da ansiedade em ratos adolescentes (16 dias) nas tarefas de labirinto em cruz elevado e campo aberto, além de não ter promovido alterações na resposta de medo condicionado. Esse resultado é semelhante ao encontrado em nosso experimento crônico, tendo em vista que os níveis séricos de lítio dos animais desse estudo (0,4 a 1,2 mEq/l) foram semelhantes aos nossos (YOUNGS *et al*, 2006). No entanto, neste mesmo trabalho, foi realizada uma tarefa de memória espacial (labirinto aquático de Morris) e não foi observada diferenças significativas entre os grupos. Portanto, o efeito prejudicial na memória seria apenas para memórias com contexto emocional, visto que o aumento do nível de ansiedade pode prejudicar o aprendizado desse tipo de tarefa.

O efeito ansiogênico do lítio seria de grande importância para o tratamento da mani, visto que pacientes bipolares no estado maníaco frequentemente exibem baixos níveis de ansiedade, grande tomada de risco e impulsividade (STEINER, 1972).

Entretanto, o efeito ansiogênico foi observado apenas para o grupo tratado com 50 mg/kg, cuja dosagem sérica de lítio após 12 horas da última

administração foi de $0,13 \pm 0,007$ mEq/L, e não foi observada nos animais tratados com 100 mg/kg, cuja litemia foi de $0,51 \pm 0,058$ mEq/L. Tendo em vista que a dose terapêutica varia de 0,5 a 1,2 mEq/L, o efeito ansiogênico do lítio na dose menor poderia ser devido ao efeito rebote, ou seja, foi provocado pela abstinência da droga.

Ainda na avaliação dos dados da ED, um efeito hipolocomotor foi observado nos animais tratados agudamente com 100 e 200 mg/kg, pois estes grupos apresentaram redução da distância percorrida (Figura 3) e da velocidade (Tabela 1) no treino. Foi observado também uma redução da distância percorrida pelo grupo tratado com 100 mg/kg de lítio na sessão teste (Figura 4). No entanto, a diminuição na exploração durante a sessão teste pode ser devido uma menor motivação exploratória dos animais nesta sessão comparada com a sessão treino. Em outras palavras, a diminuição da exploração é, provavelmente, reflexo da habituação ao aparato. Contraditoriamente, não foi observada diferença na taxa de habituação entre os grupos, embora haja uma tendência. Isso corrobora o resultado encontrado no déficit de aprendizado/memória (Figura 5).

O déficit motor apresentado pelos animais poderia estar comprometendo a análise dos parâmetros de ansiedade e memória na tarefa, ou seja, o fato de o rato não explorar suficientemente o labirinto poderia levar a falsos resultados nesses outros parâmetros. Assim, para verificar se o efeito ansiolítico observado no tratamento agudo com lítio foi devido ao déficit locomotor, analisamos a distância percorrida (Figura 14) e o número de entradas (Figura 15) dos animais nos braços abertos. Para ver se o prejuízo na locomoção foi a causa do déficit no aprendizado, avaliamos o tempo de reação (Figura 9) do

animal, que é o tempo que o animal leva para reagir (sair do braço AV) quando recebe o estímulo. Não observamos diferença entre os grupos em nenhum desses parâmetros. Esses resultados sugerem que apesar de haver uma redução na locomoção, isso não parece ser responsável pelos efeitos observados na ansiedade e no aprendizado/memória, respectivamente.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para a distância percorrida (Figura 18) e para a velocidade (Tabela 3) nos animais tratados cronicamente com lítio.

Apesar de se esperar que um efeito do tipo antidepressivo fosse observado, pelo menos no que diz respeito ao tratamento crônico com lítio, nenhum dos parâmetros avaliados no NF mostrou resultados significativos. O teste do NF foi ineficaz para demonstrar o efeito antidepressivo do lítio, não havendo diferenças entre os grupos tanto para o tratamento agudo (Figura 17) quanto para o crônico (Figura 30). Nesse sentido, estudo recente indicou que fatores genéticos podem estar associados com a capacidade de resposta ao tratamento agudo ou crônico com lítio nesta tarefa (CAN *et al.*, 2011). Muitos estudos conseguem demonstrar o efeito antidepressivo do lítio no NF, relatando a redução do tempo da imobilidade no NF em ratos após o tratamento com lítio (GHASEMI *et al.*, 2009; HASCOET *et al.*, 1994). O'Brien *et al.* (2004) demonstraram que o tratamento com lítio em camundongos também reduziu o tempo de imobilidade desses animais no NF. Eles ainda demonstraram que esse efeito foi de forma dose-dependente, visto que animais tratados com lítio 0,2% (5 dias) seguido do tratamento com lítio 0,4% (5 dias) teve menos tempo de imobilidade comparado aos animais que foram tratados apenas com a dose de 0,2% de lítio por 10 dias (O'BRIEN *et al.*, 2004). Esse

achado foi corroborado por outro estudo mais recente que mostrou que o lítio nas concentrações séricas de 1,3 e 1,4 mmol/l levou a uma redução do tempo de imobilidade no NF, enquanto esse efeito não foi observado na concentração de 0,8mmol/l (BERSUDSKY *et al.*, 2007).

O efeito do lítio no NF pode representar um paralelo à ação de estabilização do humor desse fármaco na fase depressiva do TB. Neste contexto, vários estudos encontraram que lítio pode ser efetivo para o tratamento da depressão unipolar (KLEINDIENST; GREIL, 2003; SOARES; GERSHON, 1998), potencializando da ação de outras drogas antidepressivas para tratar a depressão unipolar refratária (BAUER *et al.*, 2003; CROSSLEY & BAUER, 2007). É provável que a ausência do aumento da expressão de BDNF pode ter impedido que fosse evidenciado um efeito antidepressivo por parte dessa droga, visto que o aumento da expressão de BDNF está associada a melhora do quadro de transtorno bipolar.

O lítio parece ser mais eficiente em aliviar os sintomas agudos da mania (6 a 10 dias), mesmo que na prática seja associado ao tratamento com neurolépticos para acelerar a melhora (MALHI *et al.*, 2013). O efeito do lítio na depressão é menos expressivo do que na mania (BHAGWASAR *et al.*, 2002; VAN LIESHOUT *et al.*, 2010; FOUNTOULAKIS *et al.*, 2010). Malhi e colaboradores (2013) relataram a falha de diversas tentativas em mostrar a superioridade do lítio comparada a outros fármacos antidepressivos ou veículo. Segundo ele, as razões para isso acontecer são (1) devido ao efeito antidepressivo do lítio necessitar de um intervalo de tempo considerável para aparecer (6 a 8 semanas), dessa forma, os pacientes têm a impressão de que o tratamento não está funcionando e o abandonam com frequência; (2) ou pelo

fato das razões psicológicas e sociais da depressão serem normalmente mais complexas do que a da mania (MALHI *et al*, 2013).

Apesar de especulativo, podemos sugerir a hipótese de que o efeito agudo do lítio num episódio depressivo de pacientes bipolares poderia ser devido ao prejuízo na evocação de memórias aversivas. Como relatado na introdução, há evidências de um efeito antidepressivo do lítio em modelos animais. Entretanto, o mesmo não foi observado aqui com o tratamento agudo nem crônico. Isso pode ter ocorrido devido ao fato dos animais não terem sido submetidos a um modelo de indução de comportamento do tipo depressivo antes do tratamento e da realização das tarefas comportamentais. Por este motivo, seria interessante induzir previamente este comportamento para depois testar o tratamento farmacológico. De fato, estudos mostram que o modelo do estresse crônico imprevisível pode induzir o comportamento tipo depressivo em roedores (FORBES *et al*, 1996; WILLNER *et al*, 1987) e antidepressivos conseguem reverter esse efeito (MONLEON S *et al*, 1995). No entanto, esse modelo não foi empregado neste trabalho devido ao fato NF já ser validado para avaliar o efeito antidepressivo de drogas baseado na teoria do desamparo aprendido (PORSOLT *et al*, 1977).

Possivelmente, diferenças no protocolo (dose, via de administração, droga utilizada, tarefa empregada para avaliar) podem ter interferido no nosso resultado para demonstrar efeito, pelo menos no que diz respeito ao tratamento crônico. No entanto, nosso trabalho corrobora outros estudos (WANG *et al*, 2013) que não foram eficazes em demonstrar o efeito antidepressivo do lítio utilizando o NF, o que pode sugerir que o teste não seria suficientemente sensível para avaliar o efeito antidepressivo dessa droga.

6. CONCLUSÕES

Dessa forma, pode-se concluir pelo nosso trabalho que o tratamento agudo com lítio promoveu prejuízo no aprendizado/memória em uma tarefa aversiva, que provavelmente foi influenciado pela redução na ansiedade, pelo fato de ser necessário um nível ótimo de ansiedade para que ocorra aprendizado com contexto emocional. Por outro lado, o tratamento crônico não promoveu alterações no aprendizado/memória e apresentou efeito ansiogênico para a menor dose de lítio. Esse efeito ansiogênico pode ter sido devido ao efeito rebote, visto que a litemia estava abaixo da concentração terapêutica nesse grupo. O tratamento com lítio não modificou a expressão de BDNF em estruturas relacionada a memória e emoção, corroborando o prejuízo encontrado na memória. Além disso, o lítio não apresentou efeito antidepressivo em ambos os tratamentos (agudo e crônico) para a tarefa do nado forçado. A literatura é bastante controversa no que diz respeito aos efeitos do lítio na memória aversiva, ansiedade e depressão tanto no tratamento agudo quanto no crônico. Vários fatores como dose, tarefas utilizadas na avaliação, espécie e via de administração podem interferir com os resultados obtidos, portanto, mais estudos são necessários para esclarecer os efeitos do lítio na memória aversiva, ansiedade e depressão.

REFERÊNCIAS

AL BANCHAABOUCI, M. PEÑA DE ORTÍZ, S. MENÉNDEZ, R. REN, K.; MALDONADO-VLAAR, C. S. Chronic lithium decreases Nurr1 expression in the rat brain and impairs spatial discrimination. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, v. 79, n. 4, p. 607-21, 2004.

ALBERT, U. ROSSO, G. MAINA, G.; BOGETTO, F. Impact of anxiety disorder comorbidity on quality of life in euthymic bipolar disorder patients : differences between bipolar I and II subtypes. *Anxiety*, v. 105, p. 297 - 303, 2008.

ALTSHULER, L. BOOKHEIMER, S. PROENZA, M.A. et al. Increased amygdala activation during mania: a functional magnetic resonance imaging study. *Am J Psychiatry*, v. 162, p. 1211–13, 2005.

ALTSHULER, L. BARTZOKIS, G. GRIEDER, T. CURRAN, J. MINTZ, J. Amygdala enlargement in bipolar disorder and hippocampal reduction in schizophrenia: an MRI study demonstrating neuroanatomic specificity. *Arch Gen Psychiatry*, v. 55, p.663–4, 1998.

ÁLVAREZ-RUÍZ, Y. CARRILLO-MORA, P. Amyloid beta 25-35 impairs reconsolidation of object recognition memory in rats and this effect is prevented by lithium carbonate. *Neuroscience Letters*, v. 548, p. 79-83, 2013.

ANDREAZZA, ANA CRISTINA; CASSINI, C. ROSA, ADRIANE RIBEIRO; et al. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *Journal of psychiatric research*, v. 41, n. 6, p. 523-9, 2007.

ANDREAZZA, ANA CRISTINA; FREY, BENICIO NORONHA; ERDTMANN, B. et al. DNA damage in bipolar disorder. *Psychiatry Research*, v. 153, n. 1, p. 27-32, 2007.

ARBAN, R. MARAIA, G. BRACKENBOROUGH, K. et al. Evaluation of the effects of lamotrigine, valproate and carbamazepine in a rodent model of mania. *Behavioural brain research*, v. 158, n. 1, p. 123-32, 2005.

BARNES, C. A. Involvement of LTP in memory: Are we “searching under the street light”? *Neuron*, v. 15, n. 4, p. 751-754, 1995.

BAUER, M. FORSTHOFF, A. BAETHGE, C. ADLI, M. et al. Lithium augmentation therapy in refractory depression - update 2002. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, v. 253, p. 132–139, 2003.

BEASLEY, C. L. ZHANG, Z. J. PATTEN, I.; REYNOLDS, G. P. Selective deficits in prefrontal cortical GABAergic neurons in schizophrenia defined by the presence of calcium-binding proteins. *Biological Psychiatry*, v. 52, n. 7, p. 708-715, 2002.

BEAULIEU, J.-M. SOTNIKOVA, T. D. YAO, W.-D. et al. Lithium antagonizes dopamine-dependent behaviors mediated by an AKT/glycogen synthase kinase 3 signaling cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 101, n. 14, p. 5099-104, 2004.

BELMAKER, R. H. Medical progress: Bipolar disorder. *New England Journal of Medicine*, v. 351, n. 5, p. 476-486, 2004.

BENES, F. M. KWOK, E. W. VINCENT, S. L.; TODTENKOPF, M. S. A reduction of nonpyramidal cells in sector CA2 of schizophrenics and manic depressives. *Biological psychiatry*, v. 44, n. 2, p. 88-97, 1998.

BERK, M. Neuroprogression: pathways to progressive brain changes in bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacology*, v. 12, p. 441–5, 2009.

BERK, M. KAPCZINSKI, F. ANDREAZZA, A. C. et al. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neuroscience Biobehav Rev*, v. 35, p. 804–17, 2011.

BERSUDSKY, Y. SHALDUBINA, A.; BELMAKER, R. H. Lithium's effect in forced-swim test is blood level dependent but not dependent on weight loss. *Behavioural Pharmacology*, v. 18, n. 1, p. 77-80, 2007.

BERTOLINO, A. Neuronal pathology in the hippocampal area of patients with bipolar disorder: a study with proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Biological Psychiatry*, v. 53, n. 10, p. 906-913, 2003.

BEUZEN, A; BELZUNG, C. Link between emotional memory and anxiety states: a study by principal component analysis. *Physiology & behavior*, v. 58, n. 1, p. 111-8, 1995.

BERRETTA, S. PANTAZOULOPOULOS, H. LANGE, N. Neuron numbers and volume of the amygdala in subjects diagnosed with bipolar disorder or schizophrenia. *Biol Psychiatry*, v. 62, p. 884–93, 2007.

BELZUNG, C. LE GUIQUET, A.M. BARREAU, S. CALATAYUD, F. An investigation of the mechanisms responsible for acute fluoxetine-induced anxiogenic-like effects in mice. *Behav. Pharmacol*, v. 12, p. 151–162, 2001.

BEZCHLIBNYK, Y. B. SUN, X. WANG, J. F. MACQUEEN, G. M. MCEWEN, B. S. YOUNG, L. T. Neuron somal size is decreased in the lateral amygdalar nucleus of subjects with bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci*, v. 32, p. 203–10, 2007.

BHAGWASAR, Z. GOODWIN, G. M. The role of lithium in the treatment of bipolar depression. *Clin Neurosci Res*, v. 2, p. 222–7, 2002.

BLUMBERG, H. P., DONEGAN, N. H. SANISLOW, C. A. et al. Preliminary evidence for medication effects on functional abnormalities in the amygdala and anterior cingulate in bipolar disorder. *Psychopharmacology (Berl)*, v. 183, p. 308–313, 2005a.

BLUMBERG, H. P. FREDERICKS, C. WANG, F. KALMAR, J. H. et al. Preliminary evidence for persistent abnormalities in amygdala volumes in adolescents and young adults with bipolar disorder. *Bipolar Disorder*, v. 7, p. 570–6, 2005b.

BOURIN, MICHEL; CHENU, F. RIPOLL, N.; DAVID, D. J. P. A proposal of decision tree to screen putative antidepressants using forced swim and tail suspension tests. *Behavioural brain research*, v. 164, n. 2, p. 266-9, 2005.

BOWDEN, C. L. Acute and maintenance treatment with mood stabilizers. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, v. 6, n. 3, p. 269-75, 2003.

BOWDEN, C. L. Bipolar pathophysiology and development of improved treatments. *Brain research*, v. 1235, p. 92-7, 2008.

BRIETZKE, E.; KAPCZINSKI, F. TNF-alpha as a molecular target in bipolar disorder. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, v. 32, n. 6, p. 1355-61, 2008.

CAHILL, L.; MCGAUGH, J L. Amygdaloid complex lesions differentially affect retention of tasks using appetitive and aversive reinforcement. *Behavioral Neuroscience*, v. 104, n. 4, p. 532-543, 1990.

CALZAVARA, M. MEDRANO, W. et al. The contextual fear conditioning deficit presented by spontaneously hypertensive rats (SHR) is not improved by mood stabilizers. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, v. 35, p. 1607-11, 2011.

CAN, A., BLACKWELL R.A., PIANTADOSI, S.C., DAO, D.T., O'DONNELL, K.C., GOULD, T.D. Antidepressant-like responses to lithium in genetically diverse mouse strains. *Genes, brain and behavior*, v. 10, n. 4, p. 434-43, 2011.

CASTAGNÉ, V. MOSER, P. ROUX, S.; PORSOLT, ROGER D. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. *Current protocols in neuroscience*, c. 8, Unit 8.10A, 2011.

CASTRO, A. GHISONI, K. LATINI, A. et al. Lithium and valproate prevent olfactory discrimination and short-term memory impairments in the intranasal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) rat model of Parkinson's disease. *Behavioural brain research*, v. 229, p. 208-15, 2012.

CHANG, M. C. BELL, J. M. PURDON, A D. CHIKHALE, E. G.; GRANGE, E. Dynamics of docosahexaenoic acid metabolism in the central nervous system: lack of effect of chronic lithium treatment. *Neurochemical research*, v. 24, n. 3, p. 399-406, 1999.

CHANG, M. C. GRANGE, E. RABIN, O. et al. Lithium decreases turnover of arachidonate in several brain phospholipids. *Neuroscience letters*, v. 220, n. 3, p. 171-4, 1996.

CHEN, G; HASANAT, K. A; BEBCHUK, J. M. et al. Regulation of signal transduction pathways and gene expression by mood stabilizers and antidepressants. *Psychosomatic medicine*, v. 61, n. 5, p. 599-617, 1999.

CHEN, G; RAJKOWSKA, G; DU, F. SERAJI-BOZORGZAD, N.; MANJI, H K. Enhancement of hippocampal neurogenesis by lithium. *Journal of neurochemistry*, v. 75, n. 4, p. 1729-34, 2000.

CHUANG, D.M. CHEN, D.W. E. CHALECKA-FRANASZE, M. REN, R. HASHIMOTO, V. SENATOROV, H. KANAI, C. HOUGH, T. HIROI, P. Leeds, Neuroprotective effects of lithium in cultured cells and animal models of diseases. *Bipolar Disorders*, v. 4, n. 2, p. 129–136, 2002.

CLARK, L. SAHAKIAN, B. J. Cognitive neuroscience and brain imaging in bipolar disorder. *Dialogues Clin Neurosci*, v. 10, p. 153–63, 2008.

CONTESTABILE, A. GRECO, B. GHEZZI, D. TUCCI, V. BENFENATI, F. GASPARINI, L. Lithium rescues synaptic plasticity and memory in Down syndrome mice. *The journal of clinical investigation*, v. 123, p. 348-61, 2013.

COYLE, J. T. DUMAN, R. S. Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. *Neuron*. v. 38, p. 157-160, 2003.

COYLE, J. T.; MANJI, HUSSEINI K. Getting balance: drugs for bipolar disorder share target. *Nature Medicine*, v. 8, n. 6, p. 557-8, 2002.

CRADDOCK, N. O'DONOVAN, M.; OWEN, M. The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis. *Journal of Medical Genetics*, v. 42, n. 3, p. 193-204, 2005.

CRADDOCK, N.; JONES, I. Genetics of bipolar disorder. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, v. 10, n. 2, p. 141-152, 2008.

CROCE, N. MATHÉ, A. A. GELFO, F. CALTAGIRONE, C. BERNARDINI, S. ANGELUCCI, F. Effects of lithium and valproic acid on BDNF protein and gene expression in an in vitro human neuron-like model of degeneration. *Journal of psychopharmacology*, em impressão.

CROSSLEY, N. A. BAUER, M. Acceleration and augmentation of antidepressants with lithium for depressive disorders: two meta-analyses of randomized, placebo-controlled trials. *J Clin Psychiatry*, v. 68, p. 935–940, 2007.

CRYAN, J. F. MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in pharmacological sciences*, v. 23, n. 5, p. 238-45, 2002.

CUNHA, A. B. M. FREY, BENICIO N; ANDREAZZA, ANA C; et al. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neuroscience letters*, v. 398, n. 3, p. 215-9, 2006.

DAVIS, M. The role of the amygdala in fear-potentiated startle: implications for animal models of anxiety. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 13, n. 1, p. 35-41, 1992.

DEICKEN, R. F. PEGUES, M. P. ANZALONE, S. FEIWELL, R.; SOHER, B. Lower concentration of hippocampal N-acetylaspartate in familial bipolar I disorder. *The American journal of psychiatry*, v. 160, n. 5, p. 873-82, 2003.

DIAS, V. BRISSOS, S. FREY, B. ANDREAZZA, A. et al. Cognitive function and serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with bipolar disorder. *Bipolar disorders*, v. 11, p. 663-71, 2009.

DIÓGENES, M. J. COSTENLA, A. R. LOPES, L. V. et al. Enhancement of LTP in aged rats is dependent on endogenous BDNF. *Neuropsychopharmacology*, v. 36, p. 1823-36, 2011.

DRIESSEN, E. HOLLON, S. D. Cognitive Behavioral Therapy for Mood Disorders: Efficacy, Moderators and Mediators. *The psychiatric clinics of north america*, v. 33, n. 3, p. 1-18, 2011.

EINAT, H. KARBOVSKI, H. KORIK, J. TSALAH, D.; BELMAKER, R. H. Inositol reduces depressive-like behaviors in two different animal models of depression. *Psychopharmacology*, v. 144, n. 2, p. 158-62, 1999.

EINAT, H. YUAN, P. GOULD, T. D. et al. The role of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in mood modulation. *Journal of Neuroscience*, v. 23, n. 19, p. 7311-7316, 2003.

EINAT, H. MANJI, H. EINAT, H. et al. Cellular plasticity cascades: genes-to-behavior pathways in animal models of bipolar disorder. *Biol Psychiatry*, v. 59, p. 1160-71, 2006.

FARIA, M. S.; TEIXEIRA, N. A. Reversal of learned helplessness by chronic lithium treatment at a prophylactic level. *Brazilian journal of medical and biological research*, v. 26, n. 11, p. 1201-1212, 1993.

FERRARI, G V DE; CHACÓN, M. A; BARRÍA, M. I. et al. Activation of Wnt signaling rescues neurodegeneration and behavioral impairments induced by beta-amyloid fibrils. *Molecular psychiatry*, v. 8, n. 2, p. 195-208, 2003.

FESLER, F.A. Valproate in combat-related posttraumatic stress disorder. *The Journal of Clinical Psychiatry*. v. 52, n. 9, p. 361-364, 1991.

FOUNTOULAKIS, K. N. An update of evidence-based treatment of bipolar depression: where do we stand? *Curr Opin Psychiatry*, v. 23, p. 19–24, 2010.

FORBES, N.F., STEWART, C.A., MATTHEWS, K., REID, I.C. Chronic mild stress and sucrose consumption: validity as a model of depression. *Physiology & Behavior*. v. 60, n. 6, p. 1481-4, 1996.

FORLENZA, O.V. PAULA, V.J. MACHADO-VIEIRA, R. DINIZ, B.S. GATTAZ, W.F. Does lithium prevent Alzheimer's disease? *Drugs & Aging*, v. 29, n. 5, p. 335-342, 2012.

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*, v. 158, n. 1, p. 100-6, 2001.

GABRIELE A, PACKARD MG. Evidence of a role for multiple memory systems in behavioral extinction. *Neurobiology of Learning Memory*, v. 85, p. 289–99, 2006.

GELENBERG, A. J. KANE, J. M. KELLER, M. B. et al. Comparison of standard and low serum levels of lithium for maintenance treatment of bipolar disorder. *N Engl J Med*, v. 321, p.1489–93, 1989.

GHASEMI, M. SADEGHIPOUR, H. POORHEIDARI, G.; DEHPOUR, A. R. A role for nitrenergic system in the antidepressant-like effects of chronic lithium treatment in the mouse forced swimming test. *Behavioural brain research*, v. 200, n. 1, p. 76-82, 2009.

GOODWIN, F. K. JAMISON, K. R. *Manic-depressive illness*. New York: Oxford University Press, 1990.

GOULD, T. D. EINAT, HAIM; BHAT, R.; MANJI, HUSSEINI K. AR-A014418, a selective GSK-3 inhibitor, produces antidepressant-like effects in the forced

swim test. The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP), v. 7, n. 4, p. 387-90, 2004.

GOULD, T. D. O'DONNELL, K. C. DOW, E. R. et al. Involvement of AMPA receptors in the antidepressant-like effects of lithium in the mouse tail suspension test and forced swim test. *Neuropharmacology*, v. 54, n. 3, p. 577-87, 2008.

GOULD, T. D. EINAT, HAIM. Animal models of bipolar disorder and mood stabilizer efficacy: a critical need for improvement. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, v. 31, n. 6, p. 825-31, 2007.

GRASSI-OLIVEIRA, R. BRIETZKE, E. PEZZI, J. C. et al. Increased soluble tumor necrosis factor-alpha receptors in patients with major depressive disorder. *Psychiatry and clinical neurosciences*, v. 63, n. 2, p. 202-8, 2009.

GUSCOTT, R. TAYLOR, L. Lithium prophylaxis in recurrent affective illness. Efficacy, effectiveness and efficiency. *Br J Psychiatry*, v. 164, p. 741-6, 1994.

HAJEK, T. CARREY, N.; ALDA, M. Neuroanatomical abnormalities as risk factors for bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, v. 7, n. 5, p. 393-403, 2005.

HARWOOD, A J. Lithium and bipolar mood disorder: the inositol-depletion hypothesis revisited. *Molecular psychiatry*, v. 10, n. 1, p. 117-26, 2005.

HASCOET, M. BOURIN, M. KHIMAKE, S. et al. Additive effect of lithium and clonidine with 5-HT1A agonists in the forced swimming test. *Progress in neuropsychopharmacology biological psychiatry*, v. 18, p. 381-96, 1994.

HASHIMOTO, R. TAKEI, N. SHIMAZU, K. et al. Lithium induces brain-derived neurotrophic factor and activates TrkB in rodent cortical neurons: an essential step for neuroprotection against glutamate excitotoxicity. *Neuropharmacology*, v. 43, p. 1173-9, 2002.

HETMAR O, NIELSEN M. Chronic treatment with lithium chloride: reduced number of GABA receptors in frontal cortex of rat brain. *Pharmacology & Toxicology*, v. 62, n. 2, p. 107-9, 1988.

HINES, G. Effects of lithium and rubidium on shock-induced changes in open-field activity. *Psychopharmacology*, v. 88, n. 2, p. 209-212, 1986.

HINES, G. Lithium effects on position learning with exploratory and aversive goal-box conditions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 22, n. 5, p. 695-698, 1985.

HINES, G.; POLING, T. H. Lithium effects on active and passive avoidance behavior in the rat. *Psychopharmacology*, v. 82, n. 1-2, p. 78-82, 1984.

HONIG, A. ARTS, B. M. PONDS, R. W.; RIEDEL, W. J. Lithium induced cognitive side-effects in bipolar disorder: a qualitative analysis and implications for daily practice. *International Clinical Psychopharmacology*, v. 14, n. 3, p. 167-171, 1999.

HOOPER, C. MARKEVICH, V. PLATTNER, F. et al. Glycogen synthase kinase-3 inhibition is integral to long-term potentiation. *The European journal of neuroscience*, v. 25, n. 1, p. 81-6, 2007.

ISSLER, C. K. SANT, K.; LAFER, B. Anxiety disorders comorbidity in bipolar disorder Comorbidade com transtornos de ansiedade em transtorno bipolar. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 26, n. Supl III, p. 13-14, 2004.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of learning and memory*, v. 68, n. 3, p. 285-316, 1997.

JOHNSON, S. WANG, J. SUN, X. et al. Lithium treatment prevents stress-induced dendritic remodeling in the rodent amygdala. *Neuroscience*, v. 163, p. 34-9, 2009.

JOHNSTON-WILSON, N. L. SIMS, C. D. HOFMANN, J. P. et al. Disease-specific alterations in frontal cortex brain proteins in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. The Stanley Neuropathology Consortium. *Molecular Psychiatry*, v. 5, n. 2, p. 142-9, 2000.

JORNADA, L. K. MORETTI, M. VALVASSORI, S. S. et al. Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain. *Journal of psychiatric research*, v. 44, n. 8, p. 506-10, 2010.

JITSUIKI H, KAGAYA A, GOTO S, HORIGUSHI J, YAMAWAKI S. Effect of lithium carbonate on the enhancement of serotonin 2A receptor elicited by dexamethasone. *Neuropsychobiology*, v. 41, p. 55-61, 2000.

KAIDANOVICH-BEILIN, O. MILMAN, A. WEIZMAN, A. PICK, C. G.; ELDAR-FINKELMAN, H. Rapid antidepressive-like activity of specific glycogen synthase kinase-3 inhibitor and its effect on beta-catenin in mouse hippocampus. *Biological psychiatry*, v. 55, n. 8, p. 781-4, 2004.

KAMEDA K, MIURA J, SUZUKI K, KUSUMI I, TANAKA T, KOYAMA T. Effects of lithium on dopa- mine D2 receptor expression in the rat brain striatum. *J Neural Transm*, v. 108, p. 321-34, 2001.

KAPCZINSKI, FLAVIO; FREY, BENICIO N; KAUER-SANT'ANNA, M.; GRASSI-OLIVEIRA, R. Brain-derived neurotrophic factor and neuroplasticity in bipolar disorder. *Expert Review of Neurotherapeutics*, v. 8, n. 7, p. 1101-1113, 2008.

KARIMFAR, M. TABRIZIAN, K. AZAMI, K. et al. Time course effects of lithium administration on spatial memory acquisition and cholinergic marker expression in rats. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 17, p. 113-23, 2009.

KATONA, C.; ROBERTSON, M. Lithium augmentation in refractory depression. *Psychiatric Developments*, v. 6, n. 2, p. 153-171, 1997.

KECK, P. E. Jr. Long-term therapy of bipolar illness. *The journal of family practice*, suplemento: S18-21, 2003.

KENDLER, K. S. "A gene for...": the nature of gene action in psychiatric disorders. *The American journal of psychiatry*, v. 162, n. 7, p. 1243-52, 2005.

KITAICHI, Y. INOUE, T. NAKAGAWA, S. IZUMI, T.; KOYAMA, T. Effect of co-administration of subchronic lithium pretreatment and acute MAO inhibitors on extracellular monoamine levels and the expression of contextual conditioned fear in rats. *European journal of pharmacology*, v. 532, n. 3, p. 236-45, 2006.

KLEIN, P S; MELTON, D. A. A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 93, n. 16, p. 8455-9, 1996.

KLEINDIENST, N.; GREIL, W. Lithium in the long-term treatment of bipolar disorders. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, v. 253, n. 3, p. 120-5, 2003.

KNABLE, M. B. Schizophrenia and bipolar disorder: findings from studies of the Stanley Foundation Brain Collection. *Schizophrenia Research*, v. 39, n. 2, p. 149-152, 1999.

KNIJFF, E. M. BREUNIS, M. N. KUPKA, R. W. et al. An imbalance in the production of IL-1beta and IL-6 by monocytes of bipolar patients: restoration by lithium treatment. *Bipolar disorders*, v. 9, n. 7, p. 743-53, 2007.

KOCSIS, J. H. SHAW, E. D. STOKES, P. E. et al. Neuropsychologic effects of lithium discontinuation. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, v. 13, n. 4, p. 268-275, 1993.

LAGOPOULOS, J. MALHI, G. S. A functional magnetic resonance imaging study of emotional Stroop in euthymic bipolar disorder. *Neuroreport* 18:1583–1587, 2007.

LEDOUX, J. E. Emotion circuits in the brain. *Annual review of neuroscience*, v. 23, p. 155-184, 2000.

LEYHE, T. ESCHWEILER, G. W. STRANSKY, E. et al. Increase of BDNF serum concentration in lithium treated patients with early Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, v. 16, p. 649–656, 2009.

LI, X. KETTER, T. A; FRYE, M. A. Synaptic, intracellular, and neuroprotective mechanisms of anticonvulsants: are they relevant for the treatment and course of bipolar disorders? *Journal of affective disorders*, v. 69, n. 1-3, p. 1-14, 2002.

LI, X. ZHU, W. ROH, M.S. FRIEDMAN, A.B. ROSBOROUGH, K. JOPE, R.S. In vivo regulation of glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) by serotonergic activity in mouse brain. *Neuropsychopharmacology*, v. 29, n. 8, p. 1426-1431, 2004.

LIM, K.Y. YANG, J.J. LEE, D.S. NOH, J.S. JUNG, M.W. CHUNG, Y.K. Lithium attenuates stress-induced impairments of long term potentiation induction. *Neurophysiology, basic and clinical*, v. 16, n.14, 1605-08, 2005.

LOGAN, C. Y.; NUSSE, ROEL. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annual review of cell and developmental biology*, v. 20, p. 781-810, 2004.

LU, B. NAGAPPAN, G. LU, Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction. Handbook of experimental pharmacology, v. 220, p. 223-50, 2014.

MACHADO-VIEIRA, R. DIETRICH, M. O. LEKE, R. et al. Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode. Biological psychiatry, v. 61, n. 2, p. 142-4, 2007.

MACHADO-VIEIRA, R. MANJI, H. K. ZARATE JR, C. A. The role of lithium in the treatment of bipolar disorder: convergent evidence for neurotrophic effects as a unifying hypothesis. Bipolar Disorder, v. 11, n. Suppl 2, p. 92-109, 2010.

MALHI, G. S. LAGOPOULOS, J. OWEN, A. M.; YATHAM, L N. Bipolaroids: functional imaging in bipolar disorder. Acta psychiatrica Scandinavica Supplementum, v. 110, n. 422, p. 46-54, 2004.

MALHI, G. S. TANIOUS, M. DAS, P. COULSTON, C. M. BERK, M. Potential mechanisms of action of lithium in bipolar disorder. Current understanding. CNS drugs, v. 27, p. 135-53, 2013.

MANJI , H.K. MOORE, G.C. Bipolar disorder: leads from the molecular and cellular mechanisms of action of mood stabilizers. British Journal of Psychiatry, v. 178, Suppl. 41, 107–119, 2001.

MANJI, H K; DREVETS, W. C.; CHARNEY, D. S. The cellular neurobiology of depression. Nature medicine, v. 7, n. 5, p. 541-7, 2001.

MANJI, H K; DUMAN, R S. Impairments of neuroplasticity and cellular resilience in severe mood disorders: implications for the development of novel therapeutics. Psychopharmacology Bulletin, v. 35, n. 2, p. 5-49, 2001.

MARQUES, A. H. CIZZA, G.; STERNBERG, E. Brain-immune interactions and implications in psychiatric disorders Interações imunocerebrais e implicações nos transtornos psiquiátricos. Cytokines, v. 29, n. Supl I, p. 27-32, 2007.

MASI, F. SCHEGGI, S. MANGIAVACCHI, S. et al. Acquisition of an appetitive behavior reverses the effects of long-term treatment with lithium in rats. Neuroscience, v. 100, n. 4, p. 805-810, 2000.

MCAFOOSE, J. KOERNER, H.; BAUNE, B. T. The effects of TNF deficiency on age-related cognitive performance. *Psychoneuroendocrinology*, v. 34, n. 4, p. 615-9, 2009.

MCGAUGH, JAMES L. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual review of neuroscience*, v. 27, p. 1-28, 2004.

MCNAUGHTON, N. Cognitive dysfunction resulting from hippocampal hyperactivity--a possible cause of anxiety disorder? *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 56, n. 4, p. 603-611, 1997.

MELO, T.G. IZÍDIO, G.S. FERREIRA, L.S. SOUSA, D.S. MACEDO, P.T. CABRAL, A. RIBEIRO, A.M., SILVA, R.H. Antidepressants differentially modify the extinction of an aversive memory task in female rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. V. 37, 33-40, 2012.

MICHAEL, N. ERFURTH, A. OHRMANN, P. et al. Acute mania is accompanied by elevated glutamate/glutamine levels within the left dorsolateral prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, v. 168, n. 3, p. 344-6, 2003.

MIKELS, A J.; NUSSE, R. Wnts as ligands: processing, secretion and reception. *Oncogene*, v. 25, n. 57, p. 7461-8, 2006.

MITTERAUER, B. Imbalance of glial-neuronal interaction in synapses: a possible mechanism of the pathophysiology of bipolar disorder. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, v. 10, n. 3, p. 199-206, 2004.

MITTERAUER, B. J. Downregulation and upregulation of glial connexins may cause synaptic imbalances responsible for the pathophysiology of bipolar disorder. *CNS neuroscience & therapeutics*, v. 17, n. 5, p. 281-93, 2011.

MONLEON, S., D'AQUILA, P., PARRA, A., SIMON, V.M., BRAIN, P.F., WILLNER, P. Attenuation of sucrose consumption in mice by chronic mild stress and its restoration by imipramine. *Psychopharmacology*, v. 117, n. 4, p. 453-7, 1995.

MONTELEONE, P. SERRITELLA, C. MARTIADIS, V.; MAJ, M. Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in both depressed and

euthymic patients with unipolar depression and in euthymic patients with bipolar I and II disorders. *Bipolar disorders*, v. 10, n. 1, p. 95-100, 2008.

MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. *Journal of comparative and physiological psychology*, v. 48, n. 4, p. 254-260, 1955.

MONTGOMERY, K. C.; MONKMAN, J. A. The relation between fear and exploratory behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, v. 48, n. 2, p. 132-136, 1955.

MOON, R. T. KOHN, A. D. FERRARI, GIANCARLO V DE; KAYKAS, A. WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies. *Nature reviews. Genetics*, v. 5, n. 9, p. 691-701, 2004.

MÜLLER-OERLINGHAUSEN, B. BERGHÖFER, A.; BAUER, M. Bipolar disorder. *The Lancet*, v. 359, p. 241-247, 2002.

MUNGUBA, H. CABRAL, A. LEÃO, A. BARBOSA, F. et al. Pre-training anandamide infusion within the basolateral amygdala impairs plus-maze discriminative avoidance task in rats. *Neurobiology of learning and memory*, v. 95, p. 527-33, 2011.

NIERENBERG, A. A. PRICE, L. H. CHARNEY, D. S.; HENINGER, G. R. After lithium augmentation: a retrospective follow-up of patients with antidepressant-refractory depression. *Journal of Affective Disorders*, v. 18, n. 3, p. 167-75, 1990.

NOCJAR, C. HAMMONDS, M D; SHIM, S S. Chronic lithium treatment magnifies learning in rats. *Neuroscience*, v. 150, n. 4, p. 774-88, 2007.

O'BRIEN, W. T. HARPER, A. D. JOVÉ, F. et al. Glycogen synthase kinase-3beta haploinsufficiency mimics the behavioral and molecular effects of lithium. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, v. 24, n. 30, p. 6791-8, 2004.

O'LEARY, O. F. O'CONNOR, R. M.; CRYAN, J. F. Lithium-induced effects on adult hippocampal neurogenesis are topographically segregated along the dorso-ventral axis of stressed mice. *Neuropharmacology*, v. 62, n. 1, p. 247-55, 2012.

OTA, S. MOREIRA, K. SUCHECKI, D. et al. Lithium prevents REM sleep deprivation-induced impairments on memory consolidation. *Sleep*, v. 36, p. 1677-84, 2013.

PACHET, A. K.; WISNIEWSKI, A. M. The effects of lithium on cognition: an updated review. *Psychopharmacology*, v. 170, n. 3, p. 225-34, 2003.

PALOMINO, A. VALLEJO-ILLARRAMENDI, A. GONZÁLEZ-PINTO, A. et al. Decreased levels of plasma BDNF in first-episode schizophrenia and bipolar disorder patients. *Schizophrenia research*, v. 86, n. 1-3, p. 321-2, 2006.

PASCUAL T, GONZALEZ J-L. A protective effect of lithium on rat behaviour altered by ibotenic acid lesions of the basal forebrain cholinergic system. *Brain Res*, v. 650, p. 289-92, 1995.

PELLOW, S. CHOPIN, P. FILE, S. E. BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *The journal of neuroscience methods*, v. 14, p. 149-67, 1985.

PONCE-LOPEZ, T. LIY-SALMERON, G. HONG, E.; MENESES, A. Lithium, phenserine, memantine and pioglitazone reverse memory deficit and restore phospho-GSK3 β decreased in hippocampus in intracerebroventricular streptozotocin induced memory deficit model. *Brain research*, v. 1426, p. 73-85, 2011.

PORSOLT, R D; PICHON, M. LE; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.

POST, R M; BALLENGER, J. C. UHDE, T. W. et al. Effect of carbamazepine on cyclic nucleotides in CSF of patients with affective illness. *Biological Psychiatry*, v. 17, n. 9, p. 1037-1045, 1982.

POST, R M. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. *American Journal of Psychiatry*, v. 149, p. 999–1010, 1992.

POST, R. M. SPEER, A. M. HOUGH, C. J. et al. Neurobiology of bipolar illness: implications for future study and therapeutics. *Ann Clin Psychiatry*, v. 15, p. 85–94, 2003.

POST, ROBERT M. Kindling and sensitization as models for affective episode recurrence, cyclicity, and tolerance phenomena. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, v. 31, n. 6, p. 858-73, 2007.

PRICE LH, HENINGER GR. Lithium in the treatment of mood disorders. *N Engl J Med*, v. 331, p. 591-8, 1994.

PRICKAERTS, J. MOECHARS, D. CRYNS, K. et al. Transgenic mice overexpressing glycogen synthase kinase 3beta: a putative model of hyperactivity and mania. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, v. 26, n. 35, p. 9022-9, 2006.

QUIROZ, J. A. MACHADO-VIEIRA, R. ZARATE, J. et al. Novel insights into lithium's mechanism of action: neurotrophic and neuroprotective effects. *Neuropsychobiology*, v. 62, p.50–60, 2010.

RAJKOWSKA, GRAZYNA. Depression: what we can learn from postmortem studies. *The Neuroscientist a review journal bringing neurobiology neurology and psychiatry*, v. 9, n. 4, p. 273-284, 2003.

RAPOPORT, STANLEY I; BOSETTI, F. Do lithium and anticonvulsants target the brain arachidonic acid cascade in bipolar disorder? *Archives of general psychiatry*, v. 59, n. 7, p. 592-6, 2002.

RIBEIRO, A. M. BARBOSA, F. F. GODINHO, M. R. et al. Sex differences in aversive memory in rats: possible role of extinction and reactive emotional factors. *Brain and cognition*, v. 74, n. 2, p. 145-51, 2010.

RICHTER-LEVIN, G. MARKRAM, H.; SEGAL, M. Spontaneous recovery of deficits in spatial memory and cholinergic potentiation of NMDA in CA1 neurons during chronic lithium treatment. *Hippocampus*, v. 2, n. 3, p. 279-86, 1992.

ROSOKLIJA, G. TOOMAYAN, G. ELLIS, S. P. et al. Structural abnormalities of subicular dendrites in subjects with schizophrenia and mood disorders: preliminary findings. *Archives of General Psychiatry*, v. 57, n. 4, p. 349-356, 2000.

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

ROWE, M. K.; CHUANG, D.-M. Lithium neuroprotection: molecular mechanisms and clinical implications. *Expert reviews in molecular medicine*, v. 6, n. 21, p. 1-18, 2004.

ROYBAL, K. THEOBOLD, D. GRAHAM, A. et al. Mania-like behavior induced by disruption of CLOCK. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 104, n. 15, p. 6406-11, 2007.

RYBAKOWSKI, J. K. SUWALSKA, A. Excellent lithium responders have normal cognitive functions and plasma BDNF levels. *Int J Neuropsychopharmacol*, v. 13, p. 617–22, 2010.

SADRIAN, B. SUBBANNA, S. WILSON, D. et al. Lithium prevents REM sleep deprivation-induced impairments on memory consolidation. *Neuroscience*, v. 206, p. 122-35, 2012.

SANTI, S. CAPPELLO, S. RICCIO, M. BERGAMI, M. Hippocampal neurons recycle BDNF for activity-dependent secretion and LTP maintenance. *The EMBO journal*, v. 25, p. 4372-80, 2006.

SARNO, P. DE; LI, X.; JOPE, R. S. Regulation of Akt and glycogen synthase kinase-3 β phosphorylation by sodium valproate and lithium. *Neuropharmacology*, v. 43, n. 7, p. 1158-1164, 2002.

SCHOU, M. Lithium in psychiatric therapy and prophylaxis. *Journal of Psychiatric Research*, v. 6, n. 1, p. 67-95, 1968.

SCHOU, M. The combat of non-compliance during prophylactic lithium treatment. *Acta Psychiatry Scand*, v. 95, p. 361-3, 1997.

SHALLIE, P.D. AKPAN, H.B., ADEFULE, A.K. FAKOYA, D. FAGBOHUM, T.R. Assessment of lithium ingestion on cognition and some subset of motor skill. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, v. 2, n. 2, 113-117, 2010.

SHIM, S.S. , HAMMONDS, M.D. Effect of chronic lithium treatment on morphology of dendrites in hippocampus and prefrontal cortex. *Biological Psychiatry* 67, 2010.

SHIM, S.S. HAMMONDS, M.D. TATSUOKA, C. FENG, I.J. Effects os 4-weeks of treatment with lithium and olanzapine on long-term potentiation in hippocampal area CA1. *Neuroscience Letters*, v. 524, p. 5-9, 2012.

SHIM, S.S.HAMMONDS, M.D. Effects of treatment with olanzapine and lithium on synaptic plasticity and levels of BDNF, Bcl-2 and phosphorylated CREB in the hippocampus. *Biological Psychiatry* 64 (2009) 89S.

SHIM, SEONG S; HAMMONDS, MICHEAL D; GANOCY, S. J.; CALABRESE, J. R. Effects of sub-chronic lithium treatment on synaptic plasticity in the dentate gyrus of rat hippocampal slices. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, v. 31, n. 2, p. 343-7, 2007.

SILVA, R H; BELLOT, R. G. VITAL, M. A.; FRUSSA-FILHO, R. Effects of long-term ganglioside GM1 administration on a new discriminative avoidance test in normal adult mice. *Psychopharmacology*, v. 129, n. 4, p. 322-328, 1997.

SILVA, R H; FRUSSA-FILHO, R. The plus-maze discriminative avoidance task: a new model to study memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *Journal of neuroscience methods*, v. 102, n. 2, p. 117-25, 2000.

SIMON, P, PANISSAUD, C. COSTENTIN, J. Anxiogenic-like effects induced by stimulation of dopamine receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 45, p. 685–690, 1993.

SOARES, J. C.; GERSHON, S. The lithium ion: a foundation for psychopharmacological specificity. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, v. 19, n. 3, p. 167-82, 1998.

SON, H. YU, I.T. HWANG, S.J. KIM, J.S., LEE, S.H. LEE, Y.S., KAANG, B.K. Lithium enhances long-term potentiation independently of hippocampal neurogenesis in the rat dentate gyrus, *Journal of Neurochemistry*, v. 85, p. 872–881, 2003.

SPROULE, B. Lithium in bipolar disorder: can drug concentrations predict therapeutic effect? *Clin Pharmacokinet*, v. 41, p. 639-60, 2002.

STECKERT, A. V. VALVASSORI, S. S. MORETTI, M. DAL-PIZZOL, F.; QUEVEDO, J. Role of oxidative stress in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neurochemical research*, v. 35, n. 9, p. 1295-301, 2010.

STEINER, J. A questionnaire study of risk-taking in psychiatric patients. *The British journal of medical psychology*, v. 45, n. 4, p. 365-374, 1972.

STIP, E. DUFRESNE, J. LUSSIER, I.; YATHAM, L. A double-blind, placebo-controlled study of the effects of lithium on cognition in healthy subjects: mild and selective effects on learning. *Journal of Affective Disorders*, v. 60, n. 3, p. 147-57, 2000.

STRAKOWSKI, S. M. DELBELLO, M. P.; ADLER, C. M. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. *Molecular Psychiatry*, v. 10, n. 1, p. 105-116, 2005.

SYME, L. A. SYME, G. J. The role of sex and novelty in determining the social response to lithium chloride. *Psychopharmacologia*, v. 40, n. 1, p. 91-100, 1974.

TAKAHASHI, T. Lithium treatment reduces brain injury induced by focal ischemia with partial reperfusion and the protective mechanisms dispute the importance of akt activity. *Aging & Disease*, v. 3, n. 3, 226-233, 2012.

TAKEICHI, M.; ABE, K. Synaptic contact dynamics controlled by cadherin and catenins. *Trends in cell biology*, v. 15, n. 4, p. 216-21, 2005.

TECOTT, L. H.; NESTLER, E. J. Neurobehavioral assessment in the information age. *Nature neuroscience*, v. 7, n. 5, p. 462-6, 2004.

TEIXEIRA, N. A. PEREIRA, D. G.; HERMINI, A. H. Chronic but not acute Li+ treatment prevents behavioral depression in rats. *Brazilian journal of medical and biological research Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas Sociedade Brasileira de Biofisica et al*, v. 28, n. 9, p. 1003-1007, 1995.

TOLEDO, E. M. INESTROSA, N. C. Activation of Wnt signaling by lithium and rosiglitazone reduced spatial memory impairment and neurodegeneration in brains of an APP^{swe}/PSEN1^{DeltaE9} mouse model of Alzheimer's disease. *Molecular psychiatry*, v. 15, p. 272-85, 2010.

TRAMONTINA, J. F. ANDREAZZA, ANA CRISTINA; KAUER-SANT'ANNA, M. et al. Brain-derived neurotrophic factor serum levels before and after treatment for acute mania. *Neuroscience letters*, v. 452, n. 2, p. 111-3, 2009.

TSALTAS, E. KONTIS, D. BOULOUGOURIS, V. et al. Enhancing effects of chronic lithium on memory in the rat. *Behavioural brain research*, v. 177, n. 1, p. 51-60, 2007.

TSALTAS, E. KYRIAZI, T. POULOPOULOU, C. et al. Enhancing effects of lithium on memory are not by-products of learning or attentional deficits, v. 180, p. 241-55, 2007.

TSALTAS, E. KONTIS, D. BOULOUGORIS, V et al. Lithium and cognitive enhancement: leave it or take it? *Psychopharmacology*, v. 202, p. 457-76, 2009.

TSENG, M. ALDA, M. XU, L. SUN, X. et al. BDNF protein levels are decreased in transformed lymphoblasts from lithium-responsive patients with bipolar disorder. *Journal of psychiatry & neuroscience*, v. 33, p. 449-53, 2008.

VAN LIESHOUT, R. J. MACQUEEN, G. M. Efficacy and acceptability of mood stabilisers in the treatment of acute bipolar depression: systematic review. *Br J Psychiatry*, v. 196, p. 266–73, 2010.

VASCONCELLOS, A P. S. TABAJARA, A S. FERRARI, C. ROCHA, E.; DALMAZ, C. Effect of chronic stress on spatial memory in rats is attenuated by lithium treatment. *Physiology & Behavior*, v. 79, n. 2, p. 143-149, 2003.

WANG, H. ZHANG, R. WEN, S. et al. Nitric oxide increases Wnt-induced secreted protein-1 (WISP-1/CCN4) expression and function in colitis. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, v. 87, n. 4, p. 435-45, 2009.

WANG, Y. WANG, E. WANG, C. et al. Effects of lithium and carbamazepine on spatial learning and depressive behavior in a rat model of bipolar disorder induced by ouabain. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, v. 105, p. 118-27, 2013.

WEISSMAN, M. M. BLAND, R. C. CANINO, G. J. et al. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *Jama The Journal Of The American Medical Association*, v. 276, n. 4, p. 293-299, 1996.

WILLIAMS, R. S. B. CHENG, L. MUDGE, A. W.; HARWOOD, A. J. A common mechanism of action for three mood-stabilizing drugs. *Nature*, v. 417, n. 6886, p. 292-5, 2002.

WILLNER, P., TOWELL, A., SAMPSON, D., SOPHOKLEUS, S., MUSCAT, R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, v. 93, n. 3, p. 358-64, 1987.

WOOD, A. J. GOODWIN, G. M. DE SOUZA, R. GREEN, A. R. The pharmacokinetic profile of lithium in rat and mouse; an important factor in psychopharmacological investigation of the drug. *Neuropharmacology*, v. 25, p. 1285-8, 1986.

WORRALL, E. P. MOODY, J. P. PEET, M. et al. Controlled studies of the acute antidepressant effects of lithium. *The British Journal of Psychiatry*, v. 135, p. 255-62, 1979.

XU, J.J. CHAN, M.J. YANG, Y.C. Fluoxetine as a treatment for post-traumatic stress disorder. *Neurosciences*, v. 16, n. 3, p. 257-62, 2011.

YAN, X.-B. HOU, H.-L. WU, L.-M. LIU, J.; ZHOU, J.-N. Lithium regulates hippocampal neurogenesis by ERK pathway and facilitates recovery of spatial learning and memory in rats after transient global cerebral ischemia. *Neuropharmacology*, v. 53, n. 4, p. 487-95, 2007.

YAN, X.-B. WANG, S.-S. HOU, H.-L. JI, R.; ZHOU, J.-N. Lithium improves the behavioral disorder in rats subjected to transient global cerebral ischemia. *Behavioural Brain Research*, v. 177, n. 2, p. 282-289, 2007.

YATHAM, LAKSHMI N; KENNEDY, S. H. O'DONOVAN, C. et al. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) guidelines for the management of patients with bipolar disorder: consensus and controversies. *Bipolar Disorders*, v. 7, suppl. 3, p. 5-69, 2005.

YEH, Y.C. OUYANG, W.C. Mood stabilizers for the treatment of behavioral and psychological symptoms of dementia: An update review. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, v. 28, 185-193, 2012.

YOUNG, A. H.; NEWHAM, J. I. Lithium in maintenance therapy for bipolar disorder. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, v. 20, n. 2 Suppl, p. 17-22, 2006.

YOUNG, A.H. More good news about the magic ion: lithium may prevent dementia. *The British Journal of Psychiatry*, v. 198, 336-337, 2011.

YOUNGS, R. M. CHU, M. S. MELONI, E. G. et al. Lithium administration to preadolescent rats causes long-lasting increases in anxiety-like behavior and has molecular consequences. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, v. 26, n. 22, p. 6031-9, 2006.

YU, F. WANG, Z. TCHANTCHOU, F. CHIU, C.T., ZANG, Y. CHUANG, D.M. Lithium ameliorates neurodegeneration, suppresses neuroinflammation, and improves behavioral performance in a mouse model of traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma*, v.29, 362-374, 2012.

ZARRINDAST, M. R. FAZLI-TABAEI, S. AHMADI, S.; YAHYAVI, S. H. Effect of lithium on morphine state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Physiology & behavior*, v. 87, n. 2, p. 409-15, 2006.

ZARRINDAST, M. R. MISAGHI, S.; AHMADI, S. The dopaminergic system plays a role in the effect of lithium on inhibitory avoidance memory in mice. *European journal of pharmacology*, v. 590, n. 1-3, p. 198-203, 2008.

ZARRINDAST, M. R. FAZLI-TABAEI, S. KHALILZADEH, A. FARAHRMANFAR, M.; YAHYAVI, S.-H. Cross state-dependent retrieval between histamine and lithium. *Physiology & Behavior*, v. 86, n. 1-2, p. 154-163, 2005.

ZARRINDAST, M. R. SHENDY, M. M.; AHMADI, S. Nitric oxide modulates state dependency induced by lithium in an inhibitory avoidance task in mice. *Behavioural Pharmacology*, v. 18, n. 4, p. 289-295, 2007.

ZARRINDAST, M. R. SROUSHI, A. BANANEJ, M. et al. Involvement of the dopaminergic receptors of the rat basolateral amygdala in anxiolytic-like effects of the cholinergic system. *European Journal of Pharmacology*, v. 672, p. 106-112, 2011.