

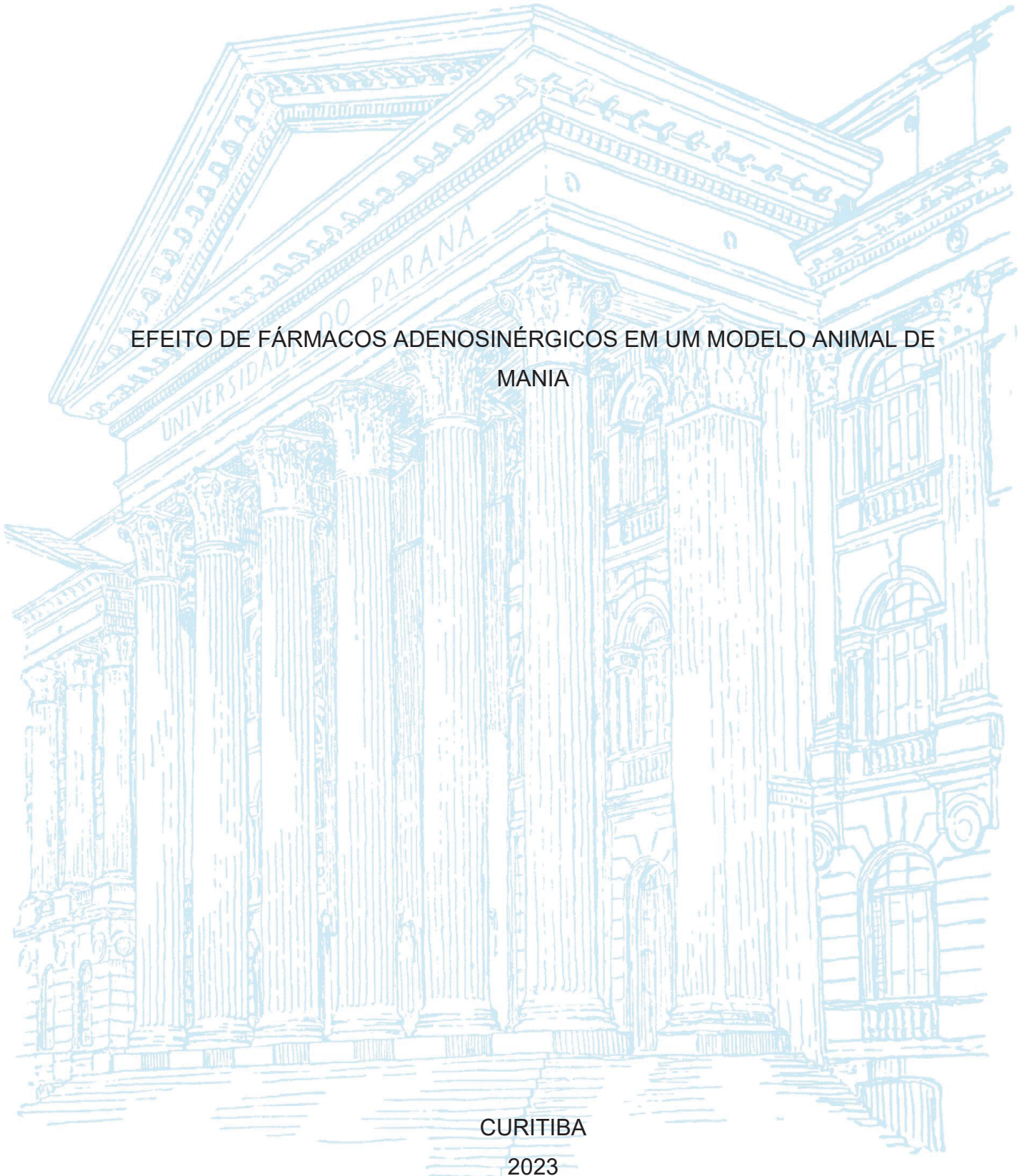
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANDERSON GUSTAVO SANTOS

EFEITO DE FÁRMACOS ADENOSINÉRGICOS EM UM MODELO ANIMAL DE
MANIA

CURITIBA

2023



ANDERSON GUSTAVO SANTOS

EFEITO DE FÁRMACOS ADENOSINÉRGICOS EM UM MODELO ANIMAL DE
MANIA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini

CURITIBA
2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Santos, Anderson Gustavo.

Efeito de fármacos adenosinérgicos em um modelo animal de mania. / Anderson Gustavo Santos. – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Orientador: Roberto Andreatini.

1. Transtorno bipolar. 2. Mania. 3. Adenosina. 4. Alopurinol. 5. Dipiridamol. 6. Locomoção. 7. Inosina. 8. Metilfenidato. I. Andreatini, Roberto, 1961-. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. III. Título



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO FARMACOLOGIA -
40001016038P0

ATA Nº331

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DOUTORADO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM FARMACOLOGIA

No dia vinte e cinco de agosto de dois mil e vinte e tres às 13:30 horas, na sala Anfiteratro, Anfiteatro do Departamento de Farmacologia, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de tese do doutorando **ANDERSON GUSTAVO SANTOS**, intitulada: **Efeito de fármacos adenosinérgicos em um modelo animal de mania**, sob orientação do Prof. Dr. ROBERTO ANDREATINI. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: ROBERTO ANDREATINI (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), RUBIA MARIA MONTEIRO WEFFORT (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ), MARIA APARECIDA BARBATO FRAZÃO VITAL (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), BRUNO JACSON MARTYNHAK (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de doutor está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, ROBERTO ANDREATINI, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 25 de Agosto de 2023.

Assinatura Eletrônica
30/08/2023 13:20:30.0
ROBERTO ANDREATINI
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
30/08/2023 15:36:40.0
RUBIA MARIA MONTEIRO WEFFORT
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ)

Assinatura Eletrônica
30/08/2023 14:14:49.0
MARIA APARECIDA BARBATO FRAZÃO VITAL
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
30/08/2023 13:33:24.0
BRUNO JACSON MARTYNHAK
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO FARMACOLOGIA -
40001016038P0

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FARMACOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **ANDERSON GUSTAVO SANTOS** intitulada: **Efeito de fármacos adenosinérgicos em um modelo animal de mania**, sob orientação do Prof. Dr. ROBERTO ANDREATINI, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 25 de Agosto de 2023.

Assinatura Eletrônica
30/08/2023 13:20:30.0
ROBERTO ANDREATINI
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
30/08/2023 15:36:40.0
RUBIA MARIA MONTEIRO WEFFORT
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ)

Assinatura Eletrônica
30/08/2023 14:14:49.0
MARIA APARECIDA BARBATO FRAZÃO VITAL
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
30/08/2023 13:33:24.0
BRUNO JACSON MARTYNHAK
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho à minha mãe e minha avó,
que me deram todo o suporte para chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente ao meu orientador, **Prof. Dr. Roberto Andreatini**, por todo o conhecimento compartilhado, por toda a ajuda na parte experimental, pela orientação neste trabalho e seu apoio, principalmente depois de todas as dificuldades com os experimentos, pandemia, reformas nos prédios da universidade etc. Sem dúvidas seu conhecimento, estímulo e paciência foram fundamentais para que eu pudesse completar esta importante etapa da minha vida. Meu profundo agradecimento e admiração.

A **Arisa Namie**, ao **Carlos Eduardo Kühl**, **Luiz Kae Salles Kanazawa**, **Suzen Tortato Furtado de Souza** e **Gabrielle Oliveira** por toda a ajuda na execução dos experimentos. Vocês foram fundamentais para que isso fosse possível, sou profundamente grato.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia por todo o conhecimento e carinho. Sem dúvidas minha formação foi excelente, admiro e agradeço a todos. Agradeço especialmente à **Profa. Dra. Maria Vital**.

Agradeço a todos os funcionários e colegas do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia pela convivência e pelo companheirismo. Em especial a **Daniele**, **Leonardo**, **Lislaine**, **Luiz**, **Raphael**, **Camila**, **Débora**, **Maryana**, **Thiago**, **José** e **Shokouh**. Agradeço também aos meus colegas da representação discente pela parceria.

A minha família por todo o amor, carinho e suporte emocional e financeiro durante todos estes anos. Em especial a minha mãe **Aricléia**, minha avó **Pelagia** e minha irmã **Gabriela**. Apesar da distância física, vocês sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado. Não foi fácil sair de casa e não foi fácil chegar até aqui. Esta conquista também é de vocês, obrigado por tudo.

Ao meu namorado, **Guilherme Emanuel Silva Pereira**, que é a minha família em Curitiba. Agradeço por todo o amor e amizade, pelo incentivo, por dizer sempre as palavras que precisam ser ditas. Obrigado por fazer este período da minha vida ser muito mais leve e feliz.

Aos meus amigos pela força e pelo carinho neste período tão conturbado e difícil. Em especial a **Ana Flavia Tostes**, **Alícia Kruger**, **João Mario Minetto**, **Victor Queiroga** e **Lindomar Filho**. Aos colegas de trabalho da Formédica e da UniBrasil pelo apoio e suporte.

A **CAPES** pelo suporte financeiro.

A **UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**, uma universidade pública, gratuita e de qualidade pela ótima formação.

RESUMO

O transtorno bipolar é caracterizado pela alternância entre episódios depressivos e maníacos. A fisiopatologia deste transtorno ainda não está totalmente esclarecida, mas acredita-se que haja um envolvimento do sistema adenosinérgico. Evidências clínicas mostram que o tratamento adjuvante com fármacos adenosinérgicos é eficaz especialmente na redução de comportamentos maníacos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de fármacos adenosinérgicos no modelo animal de hiperlocomoção induzida por metilfenidato, um modelo de mania. Para isto, utilizamos camundongos Swiss, machos e fêmeas, que foram randomicamente distribuídos entre os grupos experimentais. Previamente, realizamos a padronização do modelo animal proposto e a determinação do efeito “per se” dos fármacos utilizados neste estudo. Em seguida, realizamos a avaliação do efeito da administração aguda e repetida de fármacos adenosinérgicos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Nos experimentos agudos, os camundongos foram tratados com alopurinol (50 e 200 mg/Kg i.p.), dipiridamol (20 mg/Kg i.p.), inosina (50 mg/Kg i.p.) ou haloperidol (0,05 mg/Kg), seguidos da administração de metilfenidato (5 mg/Kg), e posteriormente foi avaliada a sua atividade locomotora, que foi realizada em uma caixa de movimentação automatizada durante 20 minutos. A avaliação do efeito repetido destes fármacos foi realizada após 14 dias de tratamento (alopurinol 25 mg/Kg i.p.; dipiridamol 20 mg/Kg i.p. e inosina 50 mg/Kg i.p.), sendo que o metilfenidato foi administrado no 15º dia, seguido da avaliação da atividade locomotora. Por fim, realizou-se uma avaliação da administração prévia de aminofilina (2 mg/kg) ao dipiridamol para a avaliação da mediação adenosinérgica. Observou-se que o metilfenidato foi capaz de aumentar o comportamento motor dos camundongos, porém administração aguda e repetida de alopurinol e inosina não foi capaz de reduzir esta hiperativação locomotora. Por outro lado, o tratamento agudo e repetido com dipiridamol reduziu a hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, mostrando um possível efeito tipo antimaníaco. A administração de aminofilina previamente bloqueou os efeitos do dipiridamol, no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato, sugerindo que o efeito do dipiridamol é mediado pela transmissão adenosinérgica. Estes resultados nos permitem concluir que o dipiridamol, ao contrário do alopurinol e da inosina, possui uma atividade antimaníaca no modelo animal proposto, e sugere-se que este efeito seja dependente de receptores adenosinérgicos.

Palavras-chave: Adenosina, Alopurinol, Dipiridamol, Hiperlocomoção, Inosina, Mania, Metilfenidato, Transtorno bipolar.

ABSTRACT

Bipolar disorder is characterized by alternating depressive and manic episodes. The pathophysiology of this disorder is still not fully understood, but it is believed that there is an involvement of the adenosinergic system. Clinical studies show that adjunctive treatment with adenosinergic drugs is effective in reducing manic behaviors. The present work aimed to evaluate the effect of adenosinergic drugs on methylphenidate(MPH)-induced hyperlocomotion, a model of mania. For this, adult Swiss mice were randomly distributed among the experimental groups. Previously, it is performed a standardization of the methylphenidate-induced hyperlocomotion model. Moreover, it is also evaluated the effect of tested drugs alone (“*per se*” effect). Then, it is studied the effect of acute and repeated administration of adenosinergic drugs in MPH-induced hyperlocomotion. In the acute experiments, female and male mice were treated with allopurinol (50 and 200 mg/Kg i.p.), dipyridamole (20 mg/Kg i.p.), inosine (50 mg/Kg i.p.) or haloperidol (0.05 mg/Kg), followed by administration of methylphenidate (5 mg/Kg), and subsequently, their locomotor activity was evaluated, which was performed in an automated movement box for 20 minutes. These same drugs were also studied after repeated (14 days) treatment in male mice (allopurinol 25 mg/Kg i.p.; dipyridamole 20 mg/Kg i.p. and inosine 50 mg/Kg i.p.). MPH was administered on the 15th day, followed by an evaluation of the locomotor activity. Finally, the previous administration of aminophylline (2 mg/kg), an antagonist of adenosine receptors, to dipyridamole was carried out for the evaluation of an adenosinergic mediation. MPH was able to increase the locomotor activity of mice, but acute and repeated administration of allopurinol and inosine was not able to reduce this hyperactivity. On the other hand, acute and repeated treatment with dipyridamole reduced MPH-induced hyperlocomotion, showing an antimanic-like effect. Previous administration of aminophylline blocked the effect of dipyridamole in the MPH-induced hyperlocomotion, suggesting that this effect of dipyridamole is mediated by the adenosinergic system. These results allow us to conclude that dipyridamole, unlike allopurinol and inosine, has an antimanic-like activity, which is dependent on adenosinergic receptors.

Keywords: Adenosine, Allopurinol, Bipolar Disorder, Dipyridamole, Hyperlocomotion, Inosine, Mania, Methylphenidate.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	9
1.1 TRANSTORNO BIPOLAR E MANIA	9
1.1.1 Tratamento	11
1.1.2 Neurobiologia dos transtornos bipolares	12
1.1.3 MODELOS ANIMAIS DE MANIA	15
1.2 SISTEMA PURINÉRGICO	17
1.2.1 Sistema purinérgico e os transtornos bipolares.....	20
1.2.2 Fármacos adenosinérgicos e transtornos bipolares	22
2. OBJETIVOS	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 ANIMAIS.....	25
3.2 FÁRMACOS	25
3.3 DELINEAMENTO DAS ETAPAS DO PROJETO	26
3.4 PADRONIZAÇÃO DO MODELO DE HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR METILFENIDATO.....	27
3.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO “ <i>PER SE</i> ” DE FÁRMACOS ADENOSINÉRGICOS	28
3.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO AGUDO COM FÁRMACOS ADENOSINÉRGICOS NO MODELO DE MANIA.	30
3.7 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO REPETIDO COM FÁRMACOS ADENOSINÉRGICOS NO MODELO DE MANIA.	31
3.8 DESAFIO FARMACOLÓGICO UTILIZANDO UM ANTAGONISTA ADENOSINÉRGICO.	33
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
4.RESULTADOS	35
4.1 PADRONIZAÇÃO DO MODELO DE HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA POR METILFENIDATO.....	35
4.2 EFEITO DE FÁRMACOS ADENOSINÉRGICOS SOBRE A ATIVIDADE LOCOMOTORA	36
4.3 EFEITO AGUDO DOS FÁRMACOS ADENOSINÉRGICOS NO MODELO ANIMAL DE MANIA.....	38

4.4 EFEITO DO TRATAMENTO REPETIDO COM FÁRMACOS ADENOSINÉRGICOS NO MODELO ANIMAL DE MANIA.....	42
4.5 DESAFIO FARMACOLÓGICO UTILIZANDO UM ANTAGONISTA ADENOSINÉRGICO	44
6.CONCLUSÕES	54
7 REFERÊNCIAS.....	55

1. INTRODUÇÃO

1.1 Transtorno bipolar e Mania

Os transtornos bipolares foram descritos inicialmente por Falret na década de 1850, que através de observações clínicas identificou uma desordem a qual denominou de “circular madness”, ou loucura circular, na qual os pacientes apresentavam episódios de excitação e melancolia em intervalos distintos. Posteriormente a doença passou a ser conhecida como doença maníaco-depressiva, uma vez que não correspondia a definição de “loucura” e em seguida passou a ser conhecida como transtorno bipolar (ANGST; SELLARO, 2000; CARVALHO; FIRTH; VIETA, 2020).

Atualmente, os transtornos bipolares (TB) são um grupo de transtornos do humor caracterizados pela oscilação e alternância entre episódios maníacos ou hipomaníacos com episódios depressivos (CARVALHO; FIRTH; VIETA, 2020). Estes transtornos são classificados em transtorno bipolar I e transtorno bipolar II, além das desordens ciclotímicas e outras formas atípicas. Apesar de serem majoritariamente conhecidos pelas alterações comportamentais, estes transtornos também levam a alteração de aspectos cognitivos, assim como delírios (VIETA et al., 2018).

Os episódios maníacos e os hipomaníacos são representados por comportamentos como humor altamente elevado, agitação psicomotora, excesso de confiança, grandiosidade, irritabilidade, desinibição, loquacidade, hipersexualização e redução da necessidade de dormir. Apesar de apresentarem sinais e sintomas semelhantes, eles apresentam diferentes durações e intensidade (CARVALHO; FIRTH; VIETA, 2020; GRANDE et al., 2016).

O episódio maníaco apresenta duração de mais de uma semana e maior intensidade dos sintomas, podendo estar associado com sintomas psicóticos, havendo muitas vezes a necessidade de hospitalização. Dentre estes sintomas psicóticos estão os delírios, sensação de estar em perigo, de ser invejado ou perseguido. Além do mais, o paciente pode se envolver em atividades perigosas ou que possam trazer consequências negativas. Por outro lado, os episódios hipomaníacos têm duração de ao menos quatro dias consecutivos, porém

apresentam menor intensidade, sem necessidade de hospitalização ou incapacitação do paciente (GRANDE et al., 2016).

Os critérios para a definição dos episódios depressivos são os mesmos utilizados para o diagnóstico da depressão unipolar, sendo eles: sensação de inutilidade e culpa, humor depressivo durante maior parte do dia, anedonia, fadiga, agitação ou retardo psicomotor, alterações cognitivas, de sono e de peso, além de ideação suicida. Porém existem algumas diferenças psicopatológicas, uma vez que a depressão bipolar parece estar associada a um início mais precoce, com episódios de curta duração, de início e término bruscos, podendo estar associados a instabilidade de peso e aumento de sono, além de possível presença de alterações motoras e/ou psicóticas (AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION, 2013; GRANDE et al. 2016; TOMASIK et al., 2021).

Os transtornos ciclotímicos são caracterizados por recorrentes episódios hipomaníacos e depressivos, com duração de pelo menos dois anos. Existem também outras classificações que são chamadas de formas atípicas, como o transtorno misto no qual os pacientes apresentam alterações depressivas e maníacas ao mesmo tempo, além dos TB induzidos por medicamentos e os TB não especificados (AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION, 2013).

Os transtornos bipolares apresentam uma grande prevalência na população mundial, variando entre 1% a 5% da população, dependendo de aspectos étnicos, culturais, da classificação diagnóstica e da metodologia de estudo utilizada (DOME; RIHMER; GONDA, 2019). Alguns estudos apontam uma maior prevalência dos transtornos bipolares em pacientes caucasianos, porém esses dados ainda não estão bem estabelecidos. Quanto à diferença sexual, observou-se uma maior prevalência do TB-I em homens e do TB-II em mulheres (ROWLAND; MARWAHA, 2018).

O início dos sintomas parece se dar principalmente entre os 20 e 30 anos, porém também pode aparecer em outras faixas etárias. Os dados epidemiológicos também mostram uma maior prevalência da doença em ambientes mais urbanizados do que nos ambientes rurais, mostrando uma possível influência ambiental (ROWLAND; MARWAHA, 2018).

Embora a prevalência dos transtornos bipolares pareça expressiva, acredita-se que há subnotificação do número de pacientes com a doença, a qual leva a diversos prejuízos para a vida do paciente e pode torná-lo incapaz de realizar certas

atividades rotineiras. Para isto, é importante que estes pacientes sejam diagnosticados e que o tratamento seja adequado para o manejo dos seus sinais e sintomas.

1.1.1 Tratamento

Existem diversas opções de tratamento para os transtornos bipolares, como os estabilizadores de humor, antipsicóticos atípicos e típicos. Os estabilizadores de humor, como o lítio, são uma das classes mais utilizadas. Outros fármacos utilizados são os antipsicóticos atípicos, como quetiapina, olanzapina, aripiprazol, risperidona, asenapina, paliperidona e cariprazina (RHEE *et al.*, 2020). Além disto, alguns anticonvulsivantes também podem ser utilizados, como o ácido valpróico (atua como estabilizador do humor), lamotrigina e a carbamazepina, além dos antipsicóticos típicos, como haloperidol (MARZANI; PRICE NEFF, 2021).

Os avanços na pesquisa sobre tratamentos farmacológicos para o TB têm levado a revisões frequentes das diretrizes de tratamento. Em geral, o tratamento se dá entre a combinação de um estabilizador de humor com outro fármaco, como os da classe dos antipsicóticos, sendo mais eficaz do que a monoterapia com estabilizador de humor (KATO, 2019).

O Lítio é o fármaco mais utilizado no tratamento da doença, atuando como um estabilizador do humor, atuando na redução do estado maníaco, além de ser um importante agente anti-suicida (MARZANI; PRICE NEFF, 2021). Ele parece agir através da inibição da GSK-3 β (glicogênio sintase quinase 3 β) e da inositol monofosfatase (KATO, 2019). Estudos mostram que a GSK-3 β possui ação pró-inflamatória e pró-apoptótica, além de interferir sobre a neurogênese, plasticidade e sobrevivência neuronal (JOPE *et al.*, 2007; JOPE *et al.*, 2011; ROWE *et al.*, 2007).

O valproato de sódio, outro estabilizador de humor, parece ter diversos mecanismos no TB, sendo um deles a inibição de canais de sódio e cálcio, além da potencialização da neurotransmissão GABAérgica (KATO, 2019). Outro mecanismo proposto para o valproato é a inibição da myo-inositol fosfato sintase (MIPS), levando a depleção de inositol (YU *et al.*; 2017). O valproato de sódio é um importante agente estabilizador de humor, pertencente a classe dos anticonvulsivantes, sendo um importante agente para episódios de mania aguda (MARZANI; PRICE NEFF, 2021).

Os antipsicóticos atuam sobre a modulação serotoninérgica e dopaminérgica, sendo que os antipsicóticos atípicos são os mais utilizados, uma vez que possuem menor afinidade por receptores D2 de dopamina, levando a menos efeitos motores do que os antipsicóticos típicos (CARBON ET AL., 2017; JAUHAR E YOUNG, 2019).

Os antidepressivos também podem ser utilizados, porém não devem ser utilizados em monoterapia devido a possibilidade de desestabilização do humor com virada maníaca, ciclagem rápida e até mesmo aumento de ideação suicida e indução de disforia. Dentre as classes de antidepressivos os inibidores seletivos da recaptção de serotonina e os antidepressivos tricíclicos são os mais utilizados, porém sua dosagem deve ser avaliada com cuidado. (TERAO, 2021). Alguns novos antidepressivos como a quetamina parecem promissores no tratamento da depressão em pacientes com TB (RHEE *et al.*, 2020).

1.1.2 Neurobiologia dos transtornos bipolares

Embora tenham sido propostos diversos fatores e mecanismos para explicar a origem e as causas do TB, sua etiopatologia definitiva ainda não está muito clara. Acredita-se que a origem do TB envolva uma interação entre múltiplos elementos genéticos, neuroquímicos e ambientais. Além disso, observou-se que episódios recorrentes podem agravar as crises subsequentes, acompanhadas de comprometimento funcional e cognitivo (HARRISON; GEDDES; TUNBRIDGE, 2018; SCAINI *et al.*, 2020).

O envolvimento genético é um importante componente da etiologia da doença, uma vez que o risco de uma criança desenvolver TB é dez vezes maior com pais que possuem a doença, e a taxa de “herdabilidade” entre gêmeos é de 70-80% (CRADDOCK; SKLAR, 2013). Estudos de GWAS (genome-wide association studies), mostraram o envolvimento de diversos genes nos TB, dentre eles dois são de grande interesse, o CACNA1C e ANK3 (HARRISON; GEDDES; TUNBRIDGE, 2018).

O gene ANK3 é responsável pela produção da proteína anquirina G, que desempenha um papel importante na ligação entre os canais de sódio dependentes de voltagem presentes nos axônios com o citoesqueleto. O gene CACNA1C codifica a subunidade α_1 dos canais de cálcio voltagem-dependente. Outras alterações em genes associados aos canais de cálcio voltagem-dependente também foram

identificadas, o que mostra uma importante evidência do envolvimento da sinalização de cálcio nos TB (HARRISON; GEDDES; TUNBRIDGE, 2018).

Diversos outros fatores estão associados à neurobiologia da doença, como alterações de neuroplasticidade, com redução de fatores neurotróficos, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, inflamação, alterações no ritmo circadiano e aceleração do envelhecimento biológico (SCAINI *et al.*, 2020).

Assim como em doenças neurodegenerativas, os TB parecem estar associados com a morte neuronal e a redução de fatores neurotróficos. Estudos mostram que pacientes com TB possuem menores níveis plasmáticos de BDNF (Fator neurotrófico derivado do cérebro) durante as fases maníaca ou depressiva (HASHIMOTO, 2010; MACHADO-VIEIRA *et al.*, 2007; YOUNG; JURUENA, 2021). Além disso, evidências mostram mudanças em diferentes neurotrofinas e fatores tróficos em pacientes com TB, tais como a neurotrofina-3, neurotrofina-4/5, GDNF (fator neurotrófico derivado de células gliais), NGF (fator de crescimento nervoso) e VEGF (Fator de crescimento endotelial vascular) (SCOLA; ANDREAZZA, 2015). Estas evidências apontam que distúrbios na neuroplasticidade estão envolvidos na fisiopatologia dos TB (YOUNG; JURUENA, 2021).

O envolvimento do estresse oxidativo, da neuroinflamação e da disfunção mitocondrial são outros fatores que estão relacionados com a etiopatologia da doença. Alguns estudos mostram alterações bioquímicas no cérebro de pacientes com TB, tais como alteração do pH intracelular, mudanças na via glicolítica e aumento da produção de lactato, redução da produção energética de ATP, aumento do influxo de cálcio e excitotoxicidade glutamatérgica (SCAINI *et al.*, 2020). O estudo de Mallakh e colaboradores (1995) aponta o envolvimento da bomba de Na⁺/K⁺-ATPase no desenvolvimento dos sintomas maníacos e depressivos, uma vez que a redução na atividade deste transportador estaria associado a um estado de hiperexcitabilidade, correspondente ao estado de mania.

Dentre os fatores imunológicos se destaca o aumento da produção de citocinas inflamatórias durante a fase maníaca, como IL-1, IL-6, IL-4 e TNF alfa. O aumento destas citocinas parece estar associado com a ativação da via da quinurenina, que leva a neuroinflamação e a neurotoxicidade (BIRNER *et al.*, 2017; SACCARO *et al.*, 2021; TONIN *et al.*, 2014).

Diversas evidências apontam o envolvimento do estresse oxidativo na fisiopatologia da doença, tanto em estudos pré-clínicos como em estudos clínicos

(KANAZAWA *et al.*, 2017; MADIREDDY; MADIREDDY, 2022). Estas evidências apontam que no TB há um aumento de espécies reativas de oxigênio, redução da capacidade antioxidante (redução de enzimas como SOD [superóxido dismutase] e GPx [glutaciona peroxidase]), aumento de marcadores de peroxidação lipídica, de marcadores de danos ao DNA e RNA e de mutações no DNA mitocondrial (JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2022; KANAZAWA *et al.*, 2017; MADIREDDY; MADIREDDY, 2022; TONIN *et al.*, 2014).

O estresse é outro fator associado aos TB, sendo que estudos mostram um aumento da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal nestes pacientes (SCAINI *et al.*, 2020).

Outro fator importante associado aos TB são as alterações circadianas, especialmente relacionadas ao sono. Pacientes na fase maníaca apresentam redução do sono e pacientes na fase depressiva possuem maior insônia ou hipersonia. Estas evidências parecem ser explicadas pela anormalidade na secreção de melatonina ou pela alteração de “genes circadianos” em pacientes com TB (STEINAN *et al.*, 2016). Em roedores, a privação de sono leva ao desenvolvimento de sinais tipo maníacos, como hiperatividade, irritabilidade, agressividade, estereotipia e hipersexualidade (GESSA *et al.*, 1995).

Alterações neuroquímicas também estão relacionadas com os TB. Evidências apontam um envolvimento da neurotransmissão serotoninérgica, colinérgica, glutamatérgica, gabaérgica e dopaminérgica nos transtornos bipolares (ASHOK *et al.*, 2017; SHEN *et al.*, 2021).

A dopamina parece ser um componente chave na fisiopatologia dos TB. O aumento da neurotransmissão dopaminérgica está associada com o desenvolvimento de mania. A administração de fármacos dopaminérgicos como as anfetaminas, leva ao desenvolvimento de sinais e sintomas característicos da mania. Por outro lado, a diminuição da transmissão dopaminérgica, através do uso de antagonistas dopaminérgicos inibem estes comportamentos (ASHOK *et al.*, 2017).

Além de alterações nestes neurotransmissores, acredita-se que outros neurotransmissores, hormônios e segundos mensageiros tenham correlação com a doença, tais como a adenosina e o ATP (YOUNG; JURUENA, 2021).

Apesar das diversas evidências, ainda existem diversos aspectos fisiopatológicos a serem explorados.

1.1.3 Modelos animais de mania

O uso de modelos animais é fundamental para a pesquisa pré-clínica. Para que estes modelos sejam adequados eles devem possuir alguma característica semelhante com a doença em humanos, a fim de garantir um maior entendimento sobre esta doença e sobre os seus possíveis tratamentos (LOGAN; MCCLUNG, 2016).

Os modelos animais podem possuir três tipos de validade, a validade de face, de constructo e a preditiva. A validade de face (aparente) se relaciona com a capacidade do modelo em reproduzir sinais e características semelhantes a doença em humanos. A validade de constructo está associada com a semelhança entre os aspectos fisiopatológicos e bioquímicos da doença com o modelo animal. Enquanto isto, um modelo com validade preditiva tem a capacidade de reproduzir resposta aos tratamentos que são eficazes ou ineficazes em humanos (LOGAN; MCCLUNG, 2016; YOUNG et al, 2011).

Os modelos animais de mania podem ser classificados em: modelos ambientais, modelos genéticos e os modelos farmacológicos. Dentre os modelos ambientais estão o modelo da privação de sono (disrupção do ciclo circadiano) e o teste do residente-intruso (YOUNG et al, 2011).

O modelo de privação de sono é o mais utilizado. Este modelo envolve alterações no ciclo circadiano e distúrbios do sono que desencadeiam comportamentos tipo maníacos nos animais, tais como insônia, hiperatividade, comportamento agressivo, hipersexualização e comportamentos estereotípicos, como o *rearing*. Este modelo é baseado na manipulação ambiental do animal, o qual é colocado sobre uma plataforma cercada por água durante um longo período de tempo, em média 72 horas. Neste período o animal é impedido de dormir, uma vez que ao pegar no sono ele cai sobre a água e acorda prontamente. Quando o animal retorna para a sua caixa-moradia, desenvolve comportamentos tipo-maníacos (GESSA *et al.*, 1995). Este modelo é interessante uma vez que reproduz aspectos comportamentais, fisiopatológicos e farmacológicos com a doença em humanos (SHARMA *et al.*, 2016).

Os modelos genéticos são modelos com importante validade de constructo, uma vez que utilizam animais com manipulação genética que levam a fenótipos comportamentais semelhantes ao da doença em humanos. Dentre estes modelos os

mais utilizados são os modelos em roedores com modificações genéticas nos genes do transportador de dopamina (DAT), no gene CLOCK e DBP (genes de regulação do ciclo circadiano), no receptor de glutamato 6 (GluR6), no gene da GSK-3 β (glicogênio sintase quinase 3 β), ERK1 (quinase regulada por sinais extracelulares 1) e outros. Além da presença de fenótipos comportamentais, estas manipulações genéticas se correlacionam com a fisiopatologia dos TB e, alguns modelos como o knockout de DAT ou mutações no gene CLOCK também respondem a fármacos antimaníacos (LOGAN; MCCLUNG, 2016; SHARMA *et al.*, 2016).

Os modelos farmacológicos são aqueles onde há a utilização de um fármaco para a indução do comportamento tipo maníaco nos animais. Dentre estes modelos o mais utilizado é o modelo de hiperatividade induzida por psicoestimulantes, o qual utiliza fármacos psicoestimulantes como anfetaminas ou metilfenidato. Estes fármacos promovem o aumento da sinalização dopaminérgica e noradrenérgica, levando a comportamentos tipo maníacos como hiperlocomoção e agitação psicomotora e, portanto, apresentando validade de face (LOGAN; MCCLUNG, 2016; SHARMA *et al.*, 2016). Além disto, este modelo apresenta validade preditiva, uma vez que fármacos clinicamente eficazes como lítio reduzem a hiperlocomoção induzida pelas anfetaminas em algumas linhagens de roedores (GOULD *et al.* 2007).

Além da indução de comportamentos tipo-maníacos em roedores, os psicoestimulantes também levam a sinais e sintomas maníacos em indivíduos saudáveis ou com transtornos bipolares (PREUSS *et al.*, 2021). Em indivíduos bipolares pode haver a antecipação da fase maníaca (YOUNG *et al.*, 2011). Dentre os efeitos causados pelos psicoestimulantes pode se destacar a agitação, insônia, aumento de energia, humor elevado e hipersexualização (ASGHAR *et al.*, 2003; MINASSIAN *et al.*, 2016).

Dentre os modelos de hiperatividade induzida por psicoestimulantes em roedores, o uso do metilfenidato vem sendo amplamente utilizado, em especial em nosso grupo de pesquisa (KANAZAWA, 2021; SIBA, 2022). O metilfenidato é um fármaco utilizado para o tratamento do transtorno de hiperatividade e déficit de atenção e possui como mecanismo de ação a inibição dos transportadores de noradrenalina e dopamina (NET e DAT), aumentando assim os níveis destes neurotransmissores na fenda sináptica. O aumento da noradrenalina e dopamina

acarretam no comportamento de hiperlocomoção e agitação psicomotora (QUINTERO; GUTIÉRREZ-CASARES; ÁLAMO, 2022).

Diversas publicações em literatura com este modelo foram publicadas e indicam uma ótima reprodutibilidade e validade do modelo (GONÇALVES *et al.*, 2022; KANAZAWA *et al.*, 2017). Sendo assim, o modelo de hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato é uma opção interessante para a avaliação de fármacos com possível atividade antimaníaca.

1.2 Sistema purinérgico

As purinas são compostos orgânicos heterocíclicos que dão origem às bases nitrogenadas, fundamentais para a formação do DNA. Além das bases nitrogenadas (adenina e guanina), outras substâncias fazem parte deste grupo, como o ATP (trifosfato de adenosina) e a adenosina (MALEWSKA-KASPRZAK; PERMODA-OSIP; RYBAKOWSKI, 2019). O sistema purinérgico é um sistema de neurotransmissão composto pela adenosina, pelos nucleotídeos de adenina (ATP, ADP e AMP), pelos receptores purinérgicos (P1 e P2) e pelas enzimas ectonucleotidases (CALOVI; MUT-ARBONA; SPERLÁGH, 2019).

Figura 1. Metabolismo das purinas a partir do ATP.



Legenda: ADA – adenosina desaminase; ADO - adenosina; ADP – difosfato de adenosina; AMP – monofosfato de adenosina; ATP - trifosfato de adenosina; ENTPDase - nucleosídeo trifosfato difosfohidrolase; INO - inosina; HXAN - hipoxantina; NPP - nucleotídeo pirofosfatase fosfodiesterase; NT5E – 5-nucleotidase ; PNP - purina nucleosídeo fosforilase ; UA – ácido úrico; XAN – xantina; XO - xantina oxidase.

Fonte: Adaptado de GONÇALVES; ANDREJEW; GUBERT, 2022.

Estas substâncias quando metabolizadas dão origem ao ácido úrico. A figura 1 mostra o metabolismo das purinas a partir do ATP. A perda dos grupamentos de fosfato do ATP, através da hidrólise realizada pelas ENTPDases, leva a formação de ADP e posteriormente de AMP. A partir da ecto-5-nucleotidase o AMP é hidrolisado

em adenosina, a qual leva a formação de inosina a partir da adenosina deaminase. A inosina é posteriormente metabolizada em hipoxantina, em seguida em xantina e por fim em ácido úrico (GONÇALVES; ANDREJEW; GUBERT, 2022).

A neurotransmissão purinérgica foi proposta em 1972, por Burnstock, que mostrou que o ATP atuava como um neurotransmissor em neurônios não adrenérgicos e não colinérgicos de porcos da Índia. Posteriormente, ele identificou que o ATP atuava como um co-transmissor em neurônios do sistema nervoso autônomo. Posteriormente foram identificados vários receptores purinérgicos em diversas regiões cerebrais e medulares (BARANSKA, 2013).

Atualmente sabe-se que o ATP age tanto como um neurotransmissor excitatório rápido, mas também como neuromodulador com papéis importantes na proliferação, diferenciação, regeneração e morte celular. Apesar da adenosina ser o principal modulador purinérgico, o ATP também age como neurotransmissor (BARANSKA, 2013; ZIMMERMANN, 2006).

A sinalização purinérgica no cérebro é ampla e o ATP está presente em altas concentrações em regiões cerebrais como hipocampo e putâmen. A sinalização purinérgica também pode ser identificada em regiões como habênula medial, locus coeruleus, córtex somatossensorial e até mesmo na medula espinhal (BARANSKA, 2013). O sistema purinérgico desempenha um papel importante na regulação de processos neuropsicológicos, como na regulação do humor. (MALEWSKA-KASPRZAK; PERMODA-OSIP; RYBAKOWSKI, 2019).

Os receptores purinérgicos são divididos em duas principais classes, os receptores P1 (metabotrópicos) e P2 (ionotrópicos ou metabotrópicos). Os receptores P1 são receptores adenosinérgicos, e são classificados nos subtipos A1, A2A, A2B e A3 (THOMPSON *et al.*, 2021).

O A1R é o receptor adenosinérgico mais abundante no sistema nervoso central. Através da ativação deste receptor e da inibição do A2AR, a adenosina exerce propriedades neuroprotetoras no sistema nervoso central. O receptor A2R é expresso em áreas dopaminérgicas, como o estriado, núcleo accumbens e tubérculo olfatório e exerce importantes funções como a liberação de neurotransmissores (CUNHA, 2005; FIELDS; BURNSTOCK, 2006).

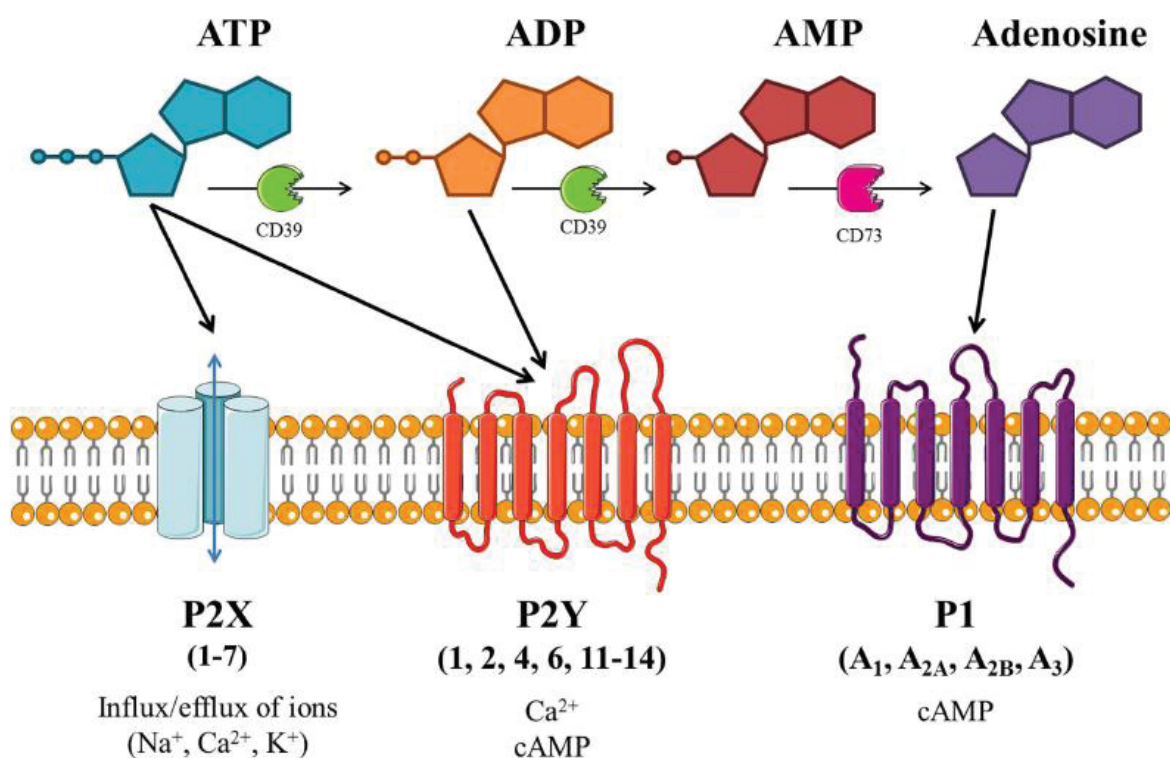
A ativação de receptores adenosinérgicos promove a modulação de outros neurotransmissores, como a dopamina e o glutamato. A ativação dos receptores A2AR nos neurônios GABAérgicos estriatopálidos no estriado resulta em diminuição

da afinidade do D2R à dopamina, devido a interação com o receptor de dopamina D2 (FERRÉ, 1997) . Outro efeito é a interação com os receptores D1 e D2 dos circuitos dopaminérgicos mesolímbicos, que leva a modulação da atividade locomotora espontânea (COLLINS *et al.*, 2010; GONÇALVES; ANDREJEV; GUBERT, 2022).

O A2AR também interage com receptores glutamatérgicos mGlu5 no estriado e no hipocampo, estimulando a liberação de glutamato e GABA. Os receptores A1, por outro lado, levam a inibição da estimulação de liberação de glutamato (CUNHA, 2005; DIÓGENES *et al.*, 2004; LOPES *et al.*, 2002).

Os receptores da classe P2, eles são subdivididos em duas famílias, a P2X e a P2Y. A família P2X corresponde aos receptores ionotrópicos, ou seja, acoplados a canais iônicos, enquanto a família P2Y corresponde a receptores acoplados a proteína G, sendo uma classe de receptores metabotrópicos (CHEFFER *et al.*, 2018).

Figura 2. Receptores purinérgicos (P2X e P2Y) e adenosinérgicos (P1).



Fonte: THOMPSON *et al.*, 2021

Os receptores da família P2X são amplamente expressos no cérebro. Os receptores P2X2, P2X4 e P2X6 são expressos na forma de heteromultímeros e

podem ser encontrados em regiões como cerebelo, enquanto os receptores P2X3 podem ser encontrados no tronco encefálico. Dentre a classe de receptores P2Y, o subtipo P2Y1 é amplamente expresso no cérebro. O hipocampo expressa diversos receptores desta família como P2Y1, P2Y2, P2Y4, P2Y6 e P2Y12 (BARANSKA, 2013; CHEFFER *et al.*, 2018).

Em muitos casos a neurotransmissão purinérgica se dá em cotransmissão com outros neurotransmissores, dentre eles a acetilcolina, noradrenalina, GABA e glutamato. Evidências apontam que há uma cotransmissão de glutamato e ATP no hipocampo, e que a transmissão purinérgica pode modular a neurotransmissão glutamatérgica (BURNSTOCK, 2009). Outras evidências apontam que a adenosina pode estimular a liberação de glutamato em astrócitos e células da glia (NISHIZAKI, 2004).

O conhecimento sobre a relação entre o sistema purinérgico com o comportamento animal e humano necessita de maiores esforços para sua compreensão. Apesar disso, diversas evidências mostram um importante papel destas substâncias. Um exemplo é o papel da adenosina na indução de sedação e de sono, uma vez que se sabe que o bloqueio de receptores adenosinérgicos por metilxantinas, como a cafeína, levam a efeitos estimulantes (CALOVI; MUTARBONA; SPERLÁGH, 2019).

A compreensão do papel do sistema purinérgico no sistema nervoso central é fundamental para que se possa elucidar os mecanismos fisiológicos de neurotransmissão, mas também para que se possa entender melhor os mecanismos fisiopatológicos de doenças relacionadas a estas substâncias.

1.2.1 Sistema purinérgico e os transtornos bipolares

O sistema purinérgico, com toda sua complexidade, está envolvido em diversos mecanismos fisiológicos e patológicos, sendo os transtornos do humor um exemplo de classe de doenças correlacionadas com disfunções neste sistema (GONÇALVES *et al.*, 2020).

O envolvimento do sistema purinérgico nos transtornos bipolares ainda não está totalmente esclarecido, mas a hipótese purinérgica para o transtorno bipolar tem sido amplamente estudada atualmente. Apesar disto, há mais de um século já havia sido observado a relação entre componentes do sistema purinérgico com

alterações do humor, especialmente ao ácido úrico (AU) (GONÇALVES; ANDREJEW; GUBERT, 2022). Observou-se que pacientes com transtornos bipolares apresentavam altos níveis de AU na urina, além disto o uso de sais de lítio em pacientes com gota e hiperuricemia promovia a estabilização do humor (AMDISEN, 1987; ANUMONYE *et al.*, 1968).

Em estudos mais recentes foi observado que pacientes com transtorno bipolar, especialmente na fase maníaca ou hipomaníaca, apresentam níveis aumentados de AU no sangue. Enquanto isto, pacientes em fases depressivas apresentam uma redução deste marcador (CHATTERJEE *et al.*, 2018; DOS SANTOS OLIVEIRA *et al.*, 2019; MUTI *et al.*, 2015).

As concentrações de ácido úrico em pacientes com TB também podem variar de acordo com a farmacoterapia ou comorbidades associadas. Alguns medicamentos como o lítio e a carbamazepina podem reduzir os níveis de AU. O aumento de AU também está associado com a síndrome metabólica, a qual é uma comorbidade comum em pacientes com TB (GONÇALVES; ANDREJEW; GUBERT, 2022).

O aumento de ácido úrico em pacientes com TB indica uma desregulação no metabolismo das purinas. Esta desregulação leva, portanto, a uma redução na concentração de adenosina, a qual em baixas concentrações parece estar relacionada com um maior comprometimento funcional em pacientes com TB (ORTIZ *et al.*, 2015).

A adenosina também está associada com a regulação do ciclo circadiano e a resposta a luz. A sinalização mediada pelos receptores A1 e A2A controla os CLOCK genes PER1 e PER2 (JAGANNATH *et al.*, 2021). Como citado anteriormente, os TB estão associados com alterações circadianas, especialmente relacionadas ao sono.

A adenosina também pode modular a transmissão glutamatérgica, a qual está relacionada com a aumento da atividade excitatória e excitotoxicidade, que estão aumentadas em pacientes com TB. Uma das evidências desta influência da adenosina sobre a transmissão glutamatérgica é a presença do heterodímero de receptores A1R-A2AR nos terminais glutamatérgicos do estriado (GONÇALVES; ANDREJEW; GUBERT, 2022).

A partir destas evidências, alguns autores têm buscado avaliar o uso de fármacos adenosinérgicos para o tratamento dos transtornos bipolares.

1.2.2 Fármacos adenosinérgicos e transtornos bipolares

O reposicionamento de fármacos é um tema que tem ganhado bastante destaque nos últimos tempos devido a maior segurança e menores custos para a busca de novas alternativas terapêuticas (ALLAHHAM *et al.*, 2022). Considerando as evidências do papel do sistema purinérgico sobre os TB, especialmente sobre a mania, alguns estudos têm destacado o papel de fármacos adenosinérgicos na redução de episódios maníacos. Dentre estes fármacos, pode-se destacar o alopurinol, dipiridamol e a inosina (HIROTA; KISHI, 2013).

O alopurinol é um inibidor da xantina oxidase, enzima responsável pela conversão de hipoxantina em xantina, levando assim ao aumento das concentrações de adenosina e inosina e, conseqüentemente, reduzindo a formação de ácido úrico. Por tal motivo o alopurinol é utilizado clinicamente como um agente antiuricêmico em pacientes com gota (GONÇALVES; ANDREJEW; GUBERT, 2022; KARVE; JAGTIANI; CHITNIS, 2013).

O alopurinol em associação com fármacos padrão para o tratamento dos TB se mostrou clinicamente efetivo em estudos clínicos e relatos de caso (BARTOLI *et al.*, 2021; FAN *et al.*, 2012; HIROTA; KISHI, 2013; JAHANGARD *et al.*, 2014). Machado-vieira e colaboradores (2001) foram um dos primeiros grupos de pesquisa a relatar os efeitos positivos da terapia adjuvante com alopurinol no tratamento de pacientes com mania, associada a hiperuricemia. Akhondzadeh e colaboradores (2006) mostraram que o tratamento com alopurinol, em associação com lítio ou haloperidol, melhorou os scores na escala YMRS (Young Mania Rating Scale), que avalia a intensidade de sintomas maníacos.

Apesar disto, resultados negativos associados ao uso do alopurinol, em associação com estabilizadores do humor e antipsicóticos, também foram observados (WEISER *et al.*, 2014). Um estudo de meta-análise mostrou que o tratamento adjuvante com alopurinol possui pequeno a moderado efeito sobre o tratamento de pacientes com mania (BARTOLI *et al.*, 2017).

O dipiridamol foi introduzido em 1959 como um anti-agregante plaquetário, devido a inibição da fosfodiesterase plaquetária, porém, devido ao surgimento de outros fármacos, seu uso foi sendo interrompido. Atualmente é utilizado principalmente como auxiliar no diagnóstico de doenças arteriais coronárias e na

profilaxia do tromboembolismo em associação com a varfarina. Além disto, o dipiridamol inibe os transportadores de nucleosídeos ENT1 e ENT2, impedindo o transporte de adenosina e aumentando suas concentrações extracelulares (ALLAHHAM, et. al. 2022).

A partir da transmissão adenosinérgica, acredita-se que o dipiridamol também possa exercer efeitos positivos sobre os sintomas maníacos de pacientes com TB (MACHADO-VIEIRA et. al. 2008). No estudo de coorte de Lintunen e colaboradores (2022), foi observado que o uso de dipiridamol ou alopurinol reduziu o risco de hospitalizações decorrentes de sintomas afetivos associados ao TB. Apesar disto, ainda há poucas evidências do efeito antimaníaco do dipiridamol na literatura.

A inosina é uma purina sintetizada pela adenosina deaminase a partir da adenosina. Apesar disto, ela também age sobre receptores adenosinérgicos, como o A1 e o A2A (KIM; JO, 2022). A inosina atua na regulação de genes envolvidos ao crescimento axonal e na modulação de doenças do humor, sendo que evidências mostram que ela reduz o comportamento tipo-depressivo em camundongos (CAMERINI *et al.*, 2020; KASTER et al., 2013). Por outro lado, apenas um estudo avaliou os efeitos da inosina em um modelo animal de mania. Camerini e colaboradores (2020) demonstraram que a inosina preveniu a hiperlocomoção induzida pela cetamina, sem promover mudanças nos receptores de adenosina.

A partir das evidências apresentadas sobre o papel do sistema purinérgico na fisiopatologia dos TB, associadas aos efeitos positivos de fármacos purinérgicos sobre a redução do comportamento maníaco quando associado a fármacos estabilizadores do humor, tornam necessários novos estudos que possam contribuir para a compreensão e a busca de novas alternativas terapêuticas para os TB. Neste sentido, o presente estudo procurou realizar uma avaliação não-clínica sobre o potencial de fármacos adenosinérgicos empregados isoladamente em um modelo animal de mania.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar os efeitos de fármacos adenosinérgicos no modelo animal de hiperlocomoção induzida por metilfenidato.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito *per se* agudo de fármacos adenosinérgicos sobre a locomoção em camundongos;
- Analisar o efeito agudo de fármacos adenosinérgicos no modelo da hiperlocomoção induzida por metilfenidato.
- Investigar o efeito do tratamento repetido com fármacos adenosinérgicos no modelo da hiperlocomoção induzida por metilfenidato.
- Avaliar a possível inibição farmacológica do efeito tipo antimaníaco utilizando um antagonista adenosinérgico, a aminofilina.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Para a realização desta pesquisa, foram utilizados camundongos, da linhagem Swiss, com aproximadamente 30 - 45 g, procedentes do biotério da UFPR. Os animais foram mantidos em caixas moradia (até 10 animais por caixa), com temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e luz controladas (ciclo claro/escuro de 12 horas, luzes acesas às 7:00), com acesso a água e ração *ad libitum*.

Os machos e as fêmeas foram mantidos em diferentes salas de acondicionamento, devido a influência comportamental. O ciclo estral das camundongas fêmeas não foi avaliado durante este estudo.

Os procedimentos experimentais realizados seguiram as legislações brasileiras e internacionais. Além disto, utilizamos alguns dos parâmetros sugeridos pelo guia para relato de experimentos *in vivo* (ARRIVE Guidelines; du Sert et al., 2020) para aumento da reprodutibilidade dos dados do estudo.

O projeto foi previamente submetido ao Comitê de Ética de Experimentação Animal (CEUA) do Setor de Ciências Biológicas da UFPR (certificado número 1437/2022). As diretrizes do ARRIVE guidelines tem como objetivo aumentar a transparência e reprodutibilidade dos dados em estudos envolvendo animais.

3.2 Fármacos

- Metilfenidato (Novartis Biociências, São Paulo, SP, Brazil), na dose de 5 mg/Kg, solubilizado em solução salina (NaCl 0.9%) e Tween 80 (1%), administrado por via subcutânea;
- Alopurinol (Sigma, Saint Louis, MO, USA) nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/Kg, solubilizado em solução salina e DMSO 5%, administrado por via intraperitoneal;
- Dipiridamol (Sigma, Saint Louis, MO, USA) nas doses de 10 e 20 mg/kg, solubilizado em solução salina e DMSO 5%, administrado por via intraperitoneal;
- Inosina (Sigma, Saint Louis, MO, USA), nas doses de 10 e 50 mg/Kg, solubilizado em solução salina, administrado por via intraperitoneal;

- Haloperidol (Jansen-Cilag, São Paulo, SP, Brazil), na dose de 0,05 mg/Kg, solubilizado em solução salina, administrado por via intraperitoneal;
- Aminofilina (Minoton®, Blau Farmacêutica, Cotia, SP, Brasil), na dose de 4 mg/Kg, solubilizada em solução salina, administrada por via intraperitoneal.

3.3 Delineamento das etapas do projeto

A fim de investigar fármacos adenosinérgicos como potenciais tratamentos para o episódio maníaco do TB, este estudo propôs avaliar o efeito de fármacos que modulam o sistema adenosinérgico no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato em camundongos, um modelo animal de mania.

Para isto, o primeiro passo realizado foi a padronização do modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato, a fim de garantir que o modelo proposto possua reprodutibilidade em relação aos dados apresentados na literatura.

Em seguida, foi realizada uma avaliação do efeito “*per se*” de fármacos adenosinérgicos sobre a atividade locomotora dos animais, a fim de evitar algum tipo de viés sobre este comportamento.

Posteriormente, foi realizada a avaliação do efeito agudo e repetido destes fármacos adenosinérgicos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. O delineamento das etapas do projeto está ilustrado abaixo, na figura 3.



Figura 3. Delineamento das etapas do projeto

Fonte: O Autor

Antes da realização de cada um dos experimentos, os camundongos utilizados foram pesados a fim de se ajustar à dose adequada, sendo que, todas os fármacos foram administrados em um volume constante de 10 mL/Kg do peso do animal. Cada animal foi distribuído de maneira randomizada para os grupos

experimentais através da utilização do site “random.org”. Os experimentos foram realizados no mesmo período do dia (12:00 - 18:00 horas), a preparação da dose e a administração do fármaco foram realizadas por diferentes pesquisadores a fim de evitar algum tipo de viés durante a execução ou análise do experimento.

A padronização do modelo e a avaliação dos efeitos agudos dos fármacos adenosinérgicos sobre o modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato foi realizada utilizando camundongos machos e fêmeas. Esta e as outras medidas citadas tiveram como objetivo garantir maior confiabilidade e reprodutibilidade dos dados obtidos neste projeto.

3.4 Padronização do modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato

A padronização do modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato teve como objetivo validar e padronizar este modelo nas condições do nosso laboratório. Este modelo é amplamente utilizado para o estudo de potenciais fármacos anti-maníacos em roedores (YOUNG et al., 2011).

O modelo se baseia na indução do comportamento hiperlocomoção, o qual apresenta semelhança com o comportamento agitado e hiperativo durante a fase maníaca, através da administração de um fármaco psicoestimulante. Neste caso, o fármaco utilizado foi o metilfenidato, que é um fármaco utilizado no tratamento do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade e que promove um aumento da transmissão noradrenérgica e dopaminérgica, levando ao comportamento tipo “maníaco” no animal. Dentre os modelos animais de mania, a hiperlocomoção induzida por metilfenidato é um dos modelos mais utilizados, uma vez que apresenta validade preditiva, de face e de constructo (EINAT, 2006; KANAZAWA, 2021).

Para a realização deste teste, os animais foram tratados com uma solução salina ou solução de metilfenidato 5 mg/Kg, via subcutânea, 20 minutos antes da realização do teste. Como citado anteriormente, esta administração tem como objetivo induzir o comportamento excitatório e de hiperlocomoção nos animais.

Após os 20 minutos, os animais foram posicionados dentro das caixas de movimentação automatizadas para a determinação da atividade locomotora. As caixas de movimentação automatizadas são caixas de madeira (40 x 20 x 26 cm), com piso de tela de arame, equipada com três sensores fotoelétricos no seu interior

(10 cm de distância entre cada sensor), os quais são ativados com a movimentação do animal, contabilizando o número de cruzamentos.

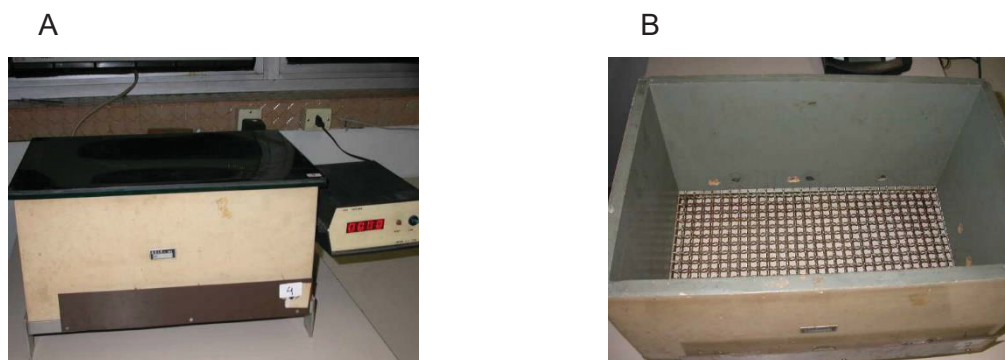


Figura 4 – Caixa de Movimentação Automatizada. (A) visão frontal com tampa; (B) visão interna sem tampa.

Fonte: O Autor.

Os cruzamentos foram contabilizados em quatro momentos distintos a cada 5 minutos. Quanto maior o número de cruzamentos, maior a atividade locomotora do animal, a qual está associada com um efeito excitatório, por outro lado, a redução do número de cruzamentos está associada a um efeito sedativo/inibitório (SIBA, 2022).

Considerando que alguns autores preconizam ou utilizam a exposição prévia (habituação) ao ambiente utilizado para avaliação do efeito de fármacos estimulantes (KELLEY, 1993), foi avaliado a influência da pré-exposição à caixa automatizada 24h antes do teste com metilfenidato.

3.5 Avaliação do efeito “*per se*” de fármacos adenosinérgicos

Assim como citado anteriormente, a avaliação do efeito *per se* dos fármacos adenosinérgicos teve como objetivo avaliar possíveis efeitos sobre o comportamento motor dos animais e, por conseguinte, definir as concentrações do fármaco a serem utilizadas para a avaliação no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. O objetivo desta avaliação foi verificar se as concentrações de fármacos propostas não influenciariam sobre a atividade locomotora do animal no teste.

Os fármacos utilizados foram: alopurinol, dipiridamol e inosina. Para cada fármaco utilizado foram identificadas concentrações usuais na literatura (ESSAWY; ELBAZ, 2013; CAMERINI et al, 2020; FERRÉ et al, 2018).

Após a definição das doses a serem avaliadas, foi realizada a distribuição dos animais entre os grupos, os quais foram distribuídos de maneira randomizada. Em seguida, foi realizada a administração dos fármacos 35 minutos antes do primeiro teste. Previamente a estes procedimentos, foi determinado o peso dos animais para o ajuste da dose a ser administrada. O teste se baseou na avaliação do comportamento motor do animal na caixa de movimentação espontânea.

A figura 5, abaixo, mostra os grupos experimentais e o respectivo fármaco e dose utilizada.

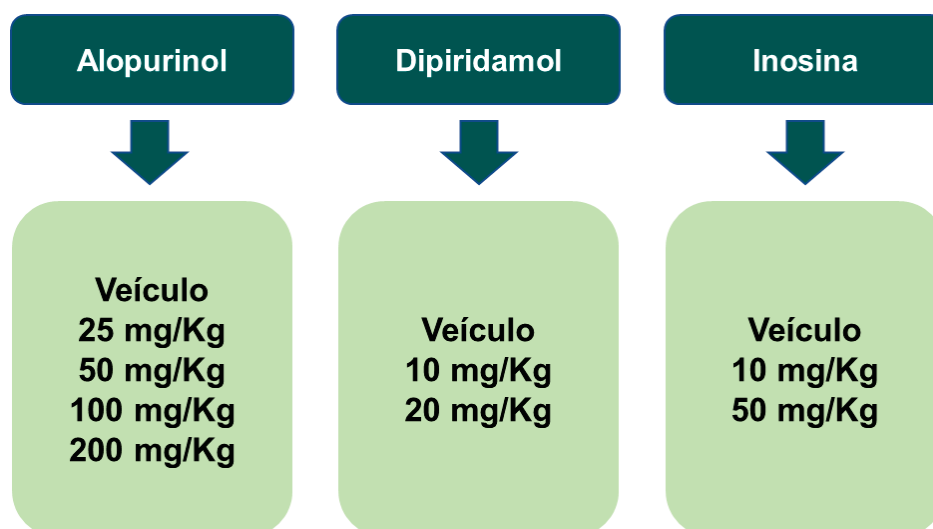


Figura 5. Grupos experimentais utilizados para a elaboração da curva dose-resposta e avaliação dos efeitos “per se” do alopurinol, dipiridamol e inosina.

Fonte: O Autor.

Após a realização do teste, foram comparados o número de cruzamentos de cada grupo experimental com o grupo controle. Os grupos experimentais que não diferiram significativamente do grupo controle possuíam uma dose adequada para avaliação posterior no modelo de mania proposto neste estudo, uma vez que não houve influência do fármaco sobre a atividade locomotora dos animais.

3.6 Avaliação do efeito do tratamento agudo com fármacos adenosinérgicos no modelo de mania.

A avaliação do efeito agudo dos fármacos adenosinérgicos foi realizada utilizando o modelo de mania de hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato. Para a realização desta etapa, os animais foram randomicamente distribuídos entre os grupos e foram utilizados camundongos machos e fêmeas, os quais foram submetidos ao experimento em dias diferentes para evitar viés comportamental.

A execução do experimento se deu através da administração dos respectivos fármacos (alopurinol, dipiridamol, inosina ou haloperidol) em cada animal 35 minutos antes do teste, por via intraperitoneal. O haloperidol foi utilizado como controle positivo.

Em seguida, 20 minutos antes do teste, foi administrado o metilfenidato 5mg/Kg por via subcutânea, para a indução do comportamento de hiperlocomoção. Após este tempo os animais foram colocados na caixa de movimentação espontânea, onde permaneceram por 20 minutos e foram registrados o número de cruzamentos dentro da caixa.

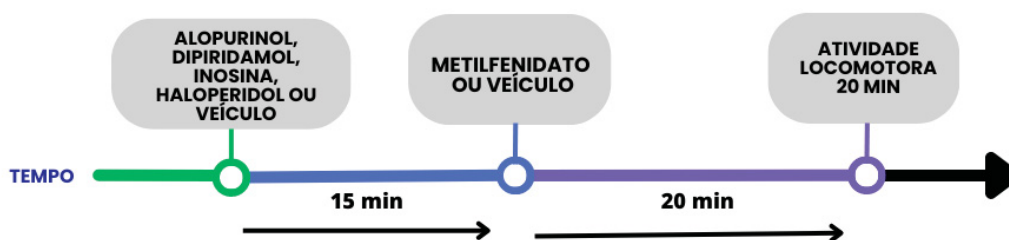


Figura 6. Desenho experimental da avaliação do efeito do tratamento agudo com fármacos adenosinérgicos no modelo de mania.

Fonte: O Autor.

As doses utilizadas de cada fármaco e os grupos experimentais utilizados estão descritos na tabela 1. As doses foram determinadas a partir de estudos na literatura (ESSAWY; ELBAZ, 2013; CAMERINI et al, 2020; FERRÉ et al, 2018) e dos dados obtidos com a avaliação do efeito “per se” destes fármacos.

Tabela 1. Grupos experimentais utilizados para a avaliação do efeito agudo de fármacos adenosinérgicos no modelo de mania

Alopurinol	Grupo	Veículo/Alopurinol	Salina/MPH
	1	Veículo	Salina
	2	Alopurinol 50 mg/Kg	Salina
	3	Alopurinol 200 mg/Kg	Salina
	4	Veículo	Metilfenidato 5 mg/Kg
	5	Alopurinol 50 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg
	6	Alopurinol 200 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg

Dipiridamol	Grupo	Veículo/Dipiridamol	Salina/MPH
	1	Veículo	Salina
	2	Dipiridamol 20 mg/Kg	Salina
	3	Veículo	Metilfenidato 5 mg/Kg
	4	Dipiridamol 20 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg

Inosina	Grupo	Veículo/Inosina	Salina/MPH
	1	Veículo	Salina
	2	Inosina 50 mg/Kg	Salina
	3	Veículo	Metilfenidato 5 mg/Kg
	4	Inosina 50 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg

Haloperidol	Grupo	Veículo/Haloperidol	Salina/MPH
	1	Veículo	Salina
	2	Haloperidol 0.05 mg/Kg	Salina
	3	Veículo	Metilfenidato 5 mg/Kg
	4	Haloperidol 0.05 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg

Fonte: O Autor.

3.7 Avaliação do efeito do tratamento repetido com fármacos adenosinérgicos no modelo de mania.

A avaliação do efeito do tratamento repetido com o alopurinol, dipiridamol e inosina foi realizado após os experimentos para avaliação do efeito agudo e teve como objetivo verificar se a administração repetida destes fármacos por um período de tempo maior poderia levar a um efeito tipo antimaníaco.

Para isto, foram utilizados camundongos machos divididos nos grupos experimentais descritos na figura abaixo. O tratamento repetido consistiu na administração de veículo, alopurinol, dipiridamol ou inosina durante 14 dias, no mesmo período do dia. Os grupos experimentais estão descritos na tabela abaixo.

Tabela 2. Grupos experimentais utilizados para a avaliação do efeito repetido de fármacos adenosinérgicos no modelo de mania.

Alopurinol	Grupo	Veículo/Alopurinol	Salina/MPH
	1	Veículo	Salina
	2	Veículo	Metilfenidato 5 mg/Kg
	3	Alopurinol 50 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg
	4	Alopurinol 200 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg

Dipiridamol	Grupo	Veículo/Dipiridamol	Salina/MPH
	1	Veículo	Salina
	2	Veículo	Metilfenidato 5 mg/Kg
	3	Dipiridamol 20 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg

Inosina	Grupo	Veículo/Inosina	Salina/MPH
	1	Veículo	Salina
	2	Veículo	Metilfenidato 5 mg/Kg
	3	Inosina 50 mg/Kg	Metilfenidato 5 mg/Kg

Fonte: O Autor.

Após este período os animais foram submetidos a administração de Metilfenidato 5 mg/Kg no 15º dia, seguido da avaliação do comportamento motor na caixa de movimentação automatizada.

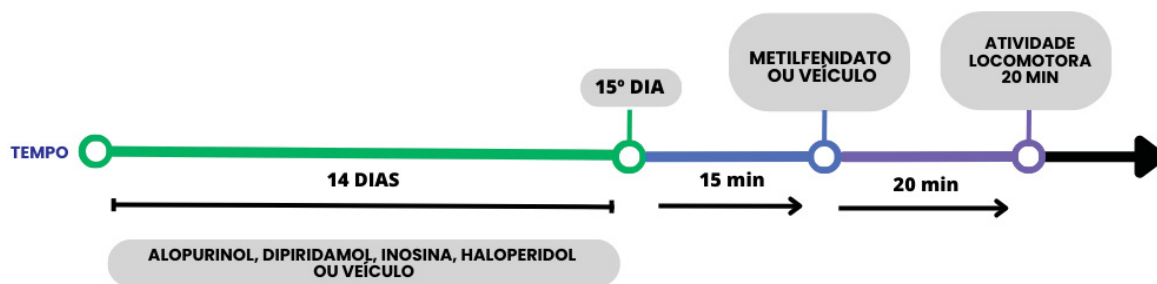


Figura 7. Desenho experimental da avaliação do efeito do tratamento repetido com fármacos adenosinérgicos no modelo de mania.

Fonte: O Autor.

3.8 Desafio farmacológico utilizando um antagonista adenosinérgico.

A fim de avaliar se o efeito “tipo anti-maníaco” do dipiridamol é decorrente da sua atividade adenosinérgica, realizamos um desafio farmacológico utilizando a aminofilina, um antagonista adenosinérgico de receptores A1 e A2 (A3 em menor potência), juntamente com o dipiridamol para verificar se há alteração na resposta comportamental dos animais submetidos ao modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato.

Para isto, os animais receberam uma administração prévia de aminofilina, 15 minutos antes da administração do dipiridamol. Em seguida, após 15 minutos, houve a administração do metilfenidato e depois de 20 minutos houve a avaliação do comportamento de hiperlocomoção na caixa de movimentação automatizada.

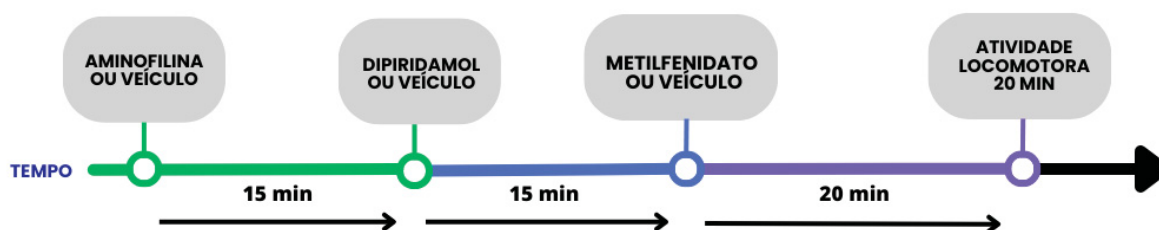


Figura x. Desenho experimental do desafio farmacológico utilizando a aminofilina como antagonista adenosinérgico.

Fonte: O Autor.

3.9 Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando o software estatístico STATISTICA (StatSoft) e os gráficos foram elaborados utilizando o software GraphPad Prism ® 8.

Para a avaliação do efeito agudo, considerando que a variável sexo não mostrou efeito significativo na ANOVA de três vias (Utilizando como variáveis o sexo, metilfenidato e os tratamentos), os dados foram analisados pela ANOVA de duas vias (Metilfenidato e tratamentos), seguidos pelo teste de Newman-Keuls, quando necessário.

A avaliação do efeito do tratamento repetido foi analisada pela ANOVA de uma via, seguida do teste de Newman-Keuls.

Os dados foram expressos em média e erro padrão da média. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Padronização do modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato

A padronização do modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato se deu através da administração deste fármaco 20 minutos antes da execução do teste para avaliação da atividade motora do animal. Considerando que alguns autores (Kelley, 1993) preconizam a exposição prévia (habituação) para aumentar a detecção do efeito dos psicoestimulantes na locomoção (em relação ao controle), avaliamos o efeito do metilfenidato tanto em camundongos habituados e não habituados à caixa de movimentação.

A ANOVA de 2 vias indicou que houve um efeito do metilfenidato ($F(1, 31)=36,29$, $P<0,0001$), da habituação ($F(1, 31)=5,81$, $P<0,05$) mas não da interação entre metilfenidato e habituação ($F(1, 31)=0,75$, NS). O metilfenidato foi capaz de induzir um aumento na locomoção dos camundongos, mensurada através do número de interrupções do feixe da caixa de movimentação automatizada. A exposição prévia não influenciou no efeito do metilfenidato. Finalmente, os camundongos habituados apresentaram uma redução da locomoção em relação aos camundongos não habituados, mas este efeito foi independente do metilfenidato (Fig. 9)

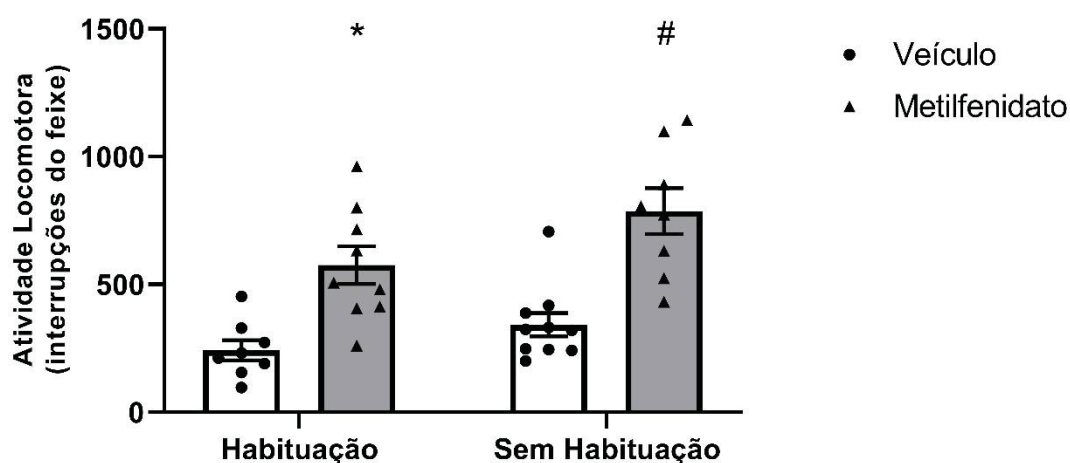


Figura 9. Atividade locomotora de animais submetidos a administração de metilfenidato ou veículo, após a habituação, ou não, na caixa de movimentação automatizada. Cada ponto representa um animal ($n = 8-10$) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. * $p \leq 0,05$ em relação ao grupo veículo + habituação. # $p \leq 0,05$ em relação ao grupo veículo + sem habituação.

Fonte: O Autor

Portanto, a administração de metilfenidato foi capaz de aumentar a atividade locomotora nos animais, o que era esperado para este modelo, o que pode ser interpretado como um comportamento do tipo maníaco.

A partir destes resultados, reproduzimos o modelo da hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, utilizando, nos experimentos seguintes, o procedimento sem a pré-exposição à caixa de movimentação.

4.2 Efeito de fármacos adenosinérgicos sobre a atividade locomotora

A avaliação do efeito “per se” dos fármacos adenosinérgicos teve como objetivo verificar qual concentração do fármaco não promovia alterações no comportamento de locomoção do animal. Para esta avaliação foram utilizadas ao menos duas doses de cada fármaco. A figura 10 mostra os resultados obtidos nesta etapa.

As doses utilizadas para a avaliação do efeito do alopurinol foram de 25 mg/Kg, 50 mg/Kg, 100 mg/Kg e 200 mg/Kg. Estas doses quando comparadas ao grupo controle, não resultaram em uma diferença significativa ($p > 0,05$), mostrando que as doses utilizadas não influenciaram sobre o comportamento motor dos animais.

O dipiridamol (10 e 20 mg/Kg) também não levou ao aumento da atividade locomotora quando comparado ao grupo controle ($F(2,12) = 0,23$, NS). Isto mostra que ambas as concentrações de dipiridamol não alteram o comportamento motor dos camundongos.

De mesmo modo, a administração de inosina nas doses de 10 e 50 mg/Kg não promoveu alterações motoras significativas quando comparado com o grupo controle ($F(2,23) = 0,73$, NS).

Estes resultados mostraram que as doses dos fármacos utilizados não foram capazes de alterar a atividade locomotora dos animais por si só, aumentando a confiabilidade dos dados obtidos posteriormente na avaliação no modelo de mania, pois exclui a possibilidade de um efeito sedativo do fármaco induzir um resultado falso positivo na hiperlocomoção por metilfenidato.

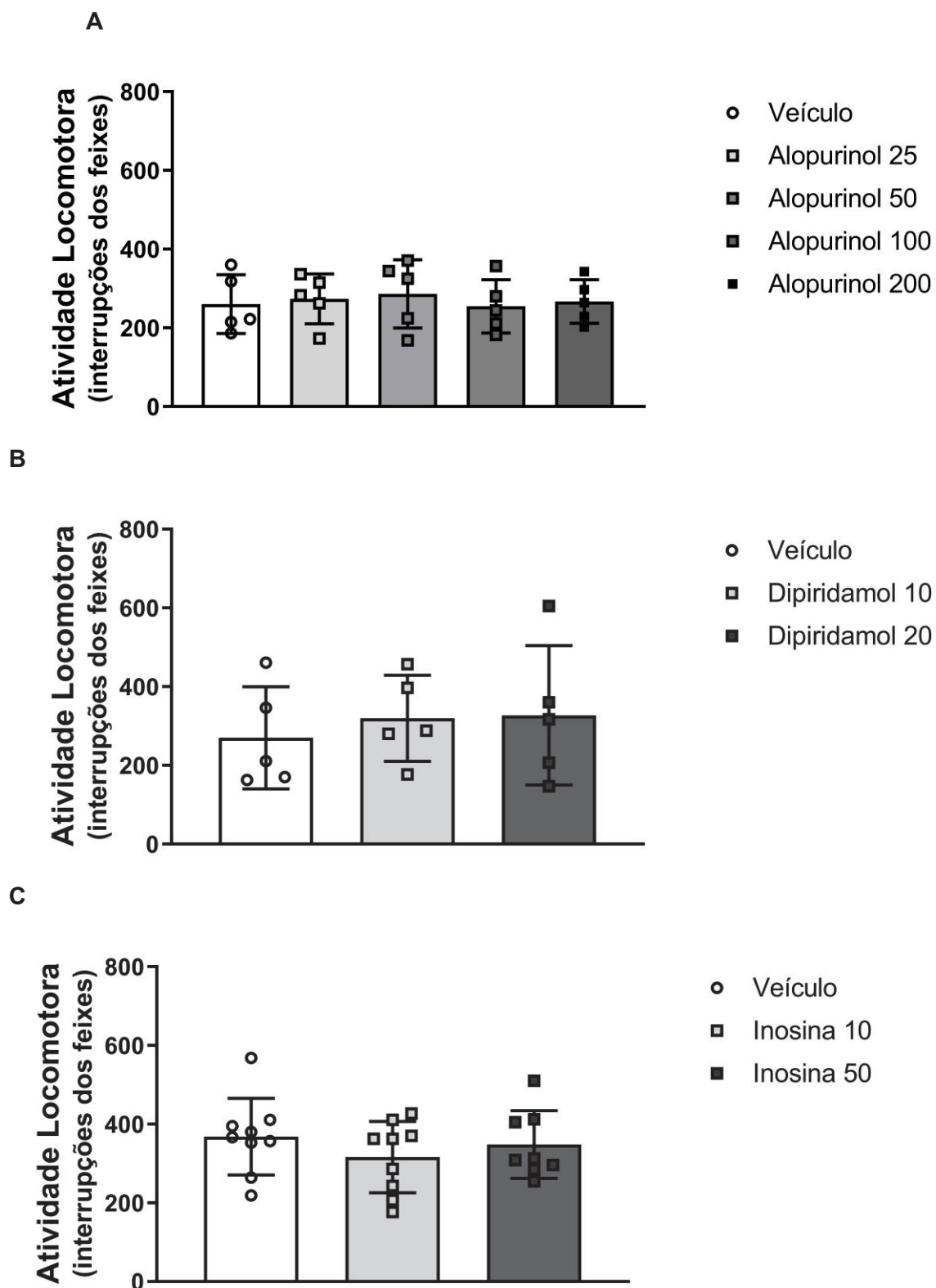


Figura 10. Efeito da administração isolada de Alopurinol (A), Dipiridamol (B) e da Inosina (C) sobre a atividade locomotora de camundongos na caixa de movimentação automatizada. Cada ponto representa um camundongo enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média (n= 5-9 camundongos/ por grupo). Não houve diferença significativa entre os grupos.

Fonte: O Autor

As doses utilizadas para a avaliação do efeito do alopurinol foram de 25 mg/Kg, 50 mg/Kg, 100 mg/Kg e 200 mg/Kg. Estas doses quando comparadas ao grupo controle, não resultaram em uma diferença significativa ($p > 0,05$), mostrando que as doses utilizadas não influenciaram sobre o comportamento motor dos animais.

O dipiridamol (10 e 20 mg/Kg) também não levou ao aumento da atividade locomotora quando comparado ao grupo controle ($F(2,12) = 0,23$, NS). Isto mostra que ambas as concentrações de dipiridamol não alteram o comportamento motor dos camundongos.

De mesmo modo, a administração de inosina nas doses de 10 e 50 mg/Kg não promoveu alterações motoras significativas quando comparado com o grupo controle ($F(2,23) = 0,73$, NS).

Estes resultados mostraram que as doses dos fármacos utilizados não foram capazes de alterar a atividade locomotora dos animais por si só, aumentando a confiabilidade dos dados obtidos posteriormente na avaliação no modelo de mania, pois exclui a possibilidade de um efeito sedativo do fármaco induzir um resultado falso positivo na hiperlocomoção por metilfenidato.

4.3 Efeito agudo dos fármacos adenosinérgicos no modelo animal de mania

A partir dos resultados obtidos na etapa anterior (item 4.2), foram definidas as doses dos fármacos a serem avaliados no modelo animal de mania induzido pelo metilfenidato. Em todos os experimentos o fator sexo não mostrou influência significativa nos demais fatores (ANOVA de 3 fatores: sexo, metilfenidato e tratamento) e por isto este fator foi retirado das análises (utilizando-se ANOVAs de 2 vias: metilfenidato e tratamento).

Alopurinol

A análise estatística mostrou que apesar de haver um efeito significativo do no fator metilfenidato ($F(1, 61) = 25.208$; $p < 0.0001$), mas não no fator tratamento ($F(2, 61) = 0.461$; NS) ou na interação metilfenidato-tratamento ($F(2, 61) = 0.016$; NS),

mostrando que o alopurinol não foi capaz de reverter o comportamento tipo maníaco induzido pelo metilfenidato (Fig. 11).

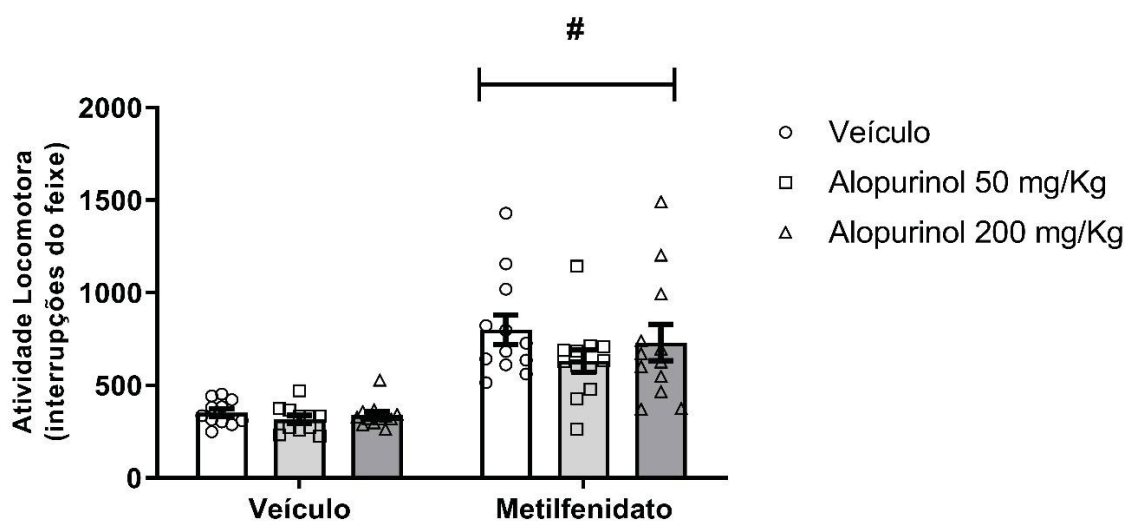


Figura 11. Efeito agudo do alopurinol sobre a atividade locomotora de camundongos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Cada ponto representa um animal (n= 5-7 machos + 5-6 fêmeas por grupo) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. # $p \leq 0,05$ comparado com o grupo veículo (fator tratamento).

Fonte: O Autor.

Dipiridamol

A administração aguda de dipiridamol no modelo de hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato mostrou resultados muito interessantes. A ANOVA de duas vias mostrou que o efeito no fator tratamento não foi significativo ($F(1,41) = 1.58$; NS), porém o fator metilfenidato ($F(1,41) = 57.43$; $p < 0.0001$) e a interação metilfenidato-tratamento ($F(1,41) = 4.60$; $p < 0.05$) tiveram efeitos significativos. O metilfenidato foi capaz de aumentar o comportamento motor dos camundongos tanto dos grupos veículo como do grupo tratado com dipiridamol. No entanto, nos camundongos tratados com metilfenidato, o dipiridamol foi capaz de reduzir a atividade locomotora em comparação com o grupo veículo ($p < 0.05$). Além disso, o dipiridamol isoladamente não foi capaz de alterar o comportamento motor dos animais, quando comparado ao grupo controle (Fig. 12).

Este resultado mostra que a administração aguda de dipiridamol na dose de 20 mg/Kg mostrou um efeito tipo antimaníaco.

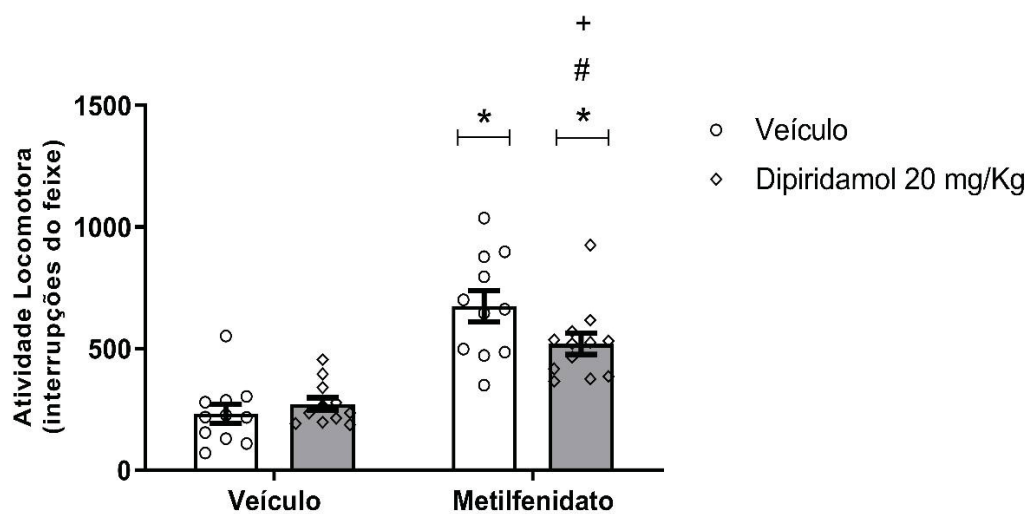


Figura 12. Efeito agudo do dipiridamol sobre a atividade locomotora de camundongos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Cada ponto representa um animal (n= 5-7 machos + 5-6 fêmeas por grupo) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. * $p \leq 0,05$ comparado com o grupo controle (veículo + veículo); # $p \leq 0,05$ comparado com o grupo dipiridamol + veículo; + $p \leq 0,05$ comparado com o grupo veículo + metilfenidato.

Fonte: O Autor.

Inosina

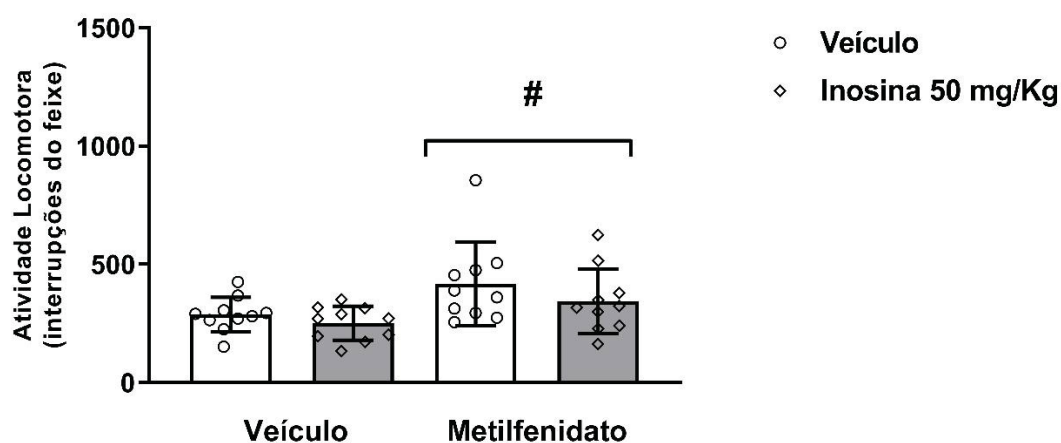


Figura 13. Efeito agudo da inosina sobre a atividade locomotora de camundongos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Cada ponto representa um animal (n= 5-7 machos + 5-6 fêmeas por grupo) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. # $p \leq 0,05$ comparado com o grupo veículo.

Fonte: O Autor.

No experimento com a inosina, o fator metilfenidato apresentou um efeito significativo $F(1, 36) = 8.153$; $p < 0.01$) porém não houve efeito significativo no fator tratamento ($F(1, 36) = 1.974$; NS) ou na interação ($F(1, 36) = 1.974$; NS). O metilfenidato aumentou a atividade locomotora independente da administração de inosina ou veículo (Fig. 13).

Haloperidol

O haloperidol foi utilizado como controle positivo. Os dados mostram que o fator metilfenidato teve um efeito significativo ($F(1,34) = 41.17$; $p < 0.0001$), o mesmo ocorrendo para o fator tratamento ($F(1,34) = 35.54$; $p < 0.0001$) e para a interação entre metilfenidato-tratamento ($F(1,34) = 9.49$; $p < 0.01$). O metilfenidato aumentou a atividade locomotora dos camundongos ($p < 0.001$) e o haloperidol foi capaz de reverter este comportamento ($p < 0.001$ comparado com o grupo MPH + veículo). Porém, o haloperidol isoladamente também reduziu a atividade locomotora dos camundongos ($p < 0.05$ comparado ao grupo controle; Fig. 14).

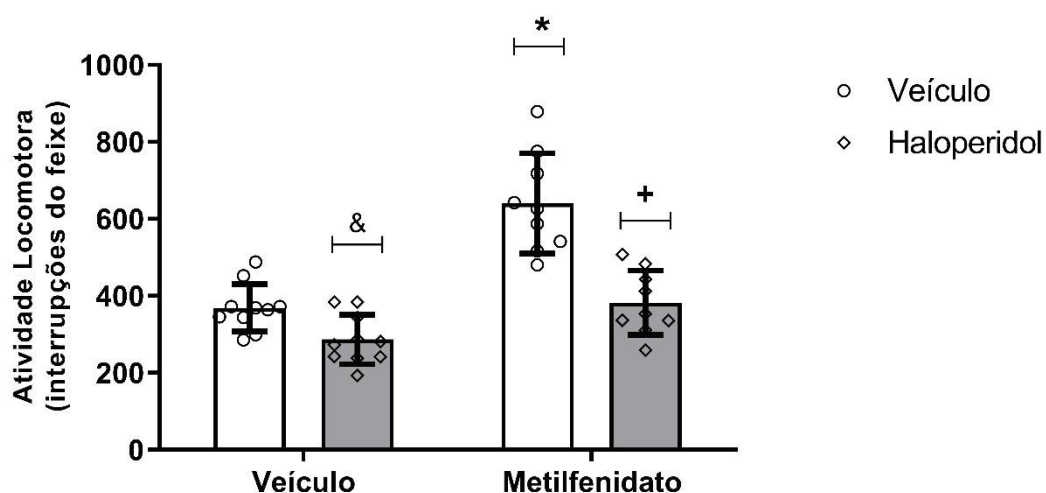


Figura 14. Efeito agudo do haloperidol (0,05 mg/kg, ip) sobre a atividade locomotora de camundongos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Cada ponto representa um animal ($n = 5-7$ machos + 5-6 fêmeas por grupo) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. * $p \leq 0.001$ comparado com o grupo veículo; & $p \leq 0.05$ comparado com o grupo veículo; + $p \leq 0.05$ comparado com o grupo veículo + metilfenidato.

Fonte: O Autor.

4.4 Efeito do tratamento repetido com fármacos adenosinérgicos no modelo animal de mania

Após avaliar o efeito agudo dos fármacos adenosinérgicos, avaliamos o efeito da administração repetida (14 dias) destes fármacos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato.

Alopurinol

A ANOVA de 1 via indicou uma diferença significativa entre os tratamentos ($F(3, 17) = 4.497, p < 0.02$). Os camundongos tratados com metilfenidato apresentaram um aumento da atividade locomotora quando comparados com o controle ($p < 0.05$). Além disto, não houve diferença significativa entre os grupos de camundongos tratados com metilfenidato (Fig. 15).

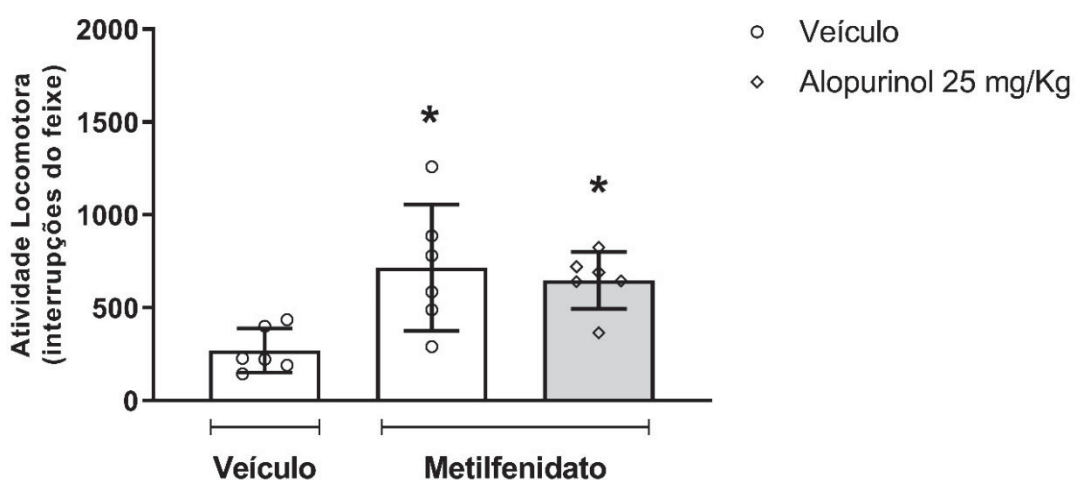


Figura 15. Efeito do tratamento repetido (14 dias) com alopurinol sobre a atividade locomotora de camundongos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Cada ponto representa um camundongo macho ($n = 6$) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. * $p \leq 0,05$ comparado com o grupo controle (veículo + veículo).

Fonte: O Autor.

Dipiridamol

Quando avaliado o tratamento repetido com dipiridamol, a ANOVA indicou uma diferença significativa entre os grupos ($F(2, 17) = 20.78, p < 0.001$). Todos os grupos tratados com metilfenidato mostraram um aumento da atividade locomotora em comparação com o grupo controle ($p < 0.05$). Entretanto, ao avaliar a diferença entre os grupos tratados com metilfenidato, foi observada uma diferença significativa entre os grupos veículo e dipiridamol ($P < 0,05$), indicando o dipiridamol foi capaz de reduzir o comportamento de hiperlocomoção induzido metilfenidato (Fig. 16).

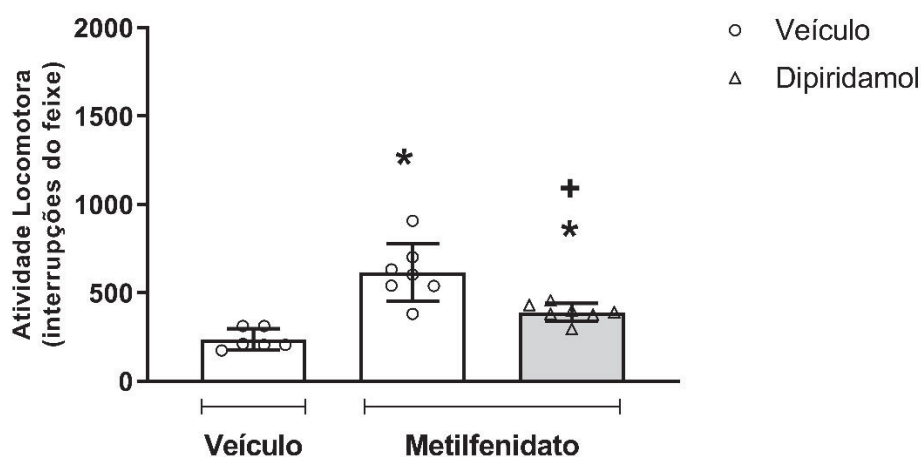


Figura 16. Efeito do tratamento repetido (14 dias) com dipiridamol (20 mg/kg, ip) sobre a atividade locomotora de camundongos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Cada ponto representa um camundongo macho ($n = 6-7$) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. * $p \leq 0,05$ comparado com o grupo controle (veículo + veículo); + $p \leq 0,05$ comparado com o grupo veículo + metilfenidato.

Fonte: O Autor.

Inosina

O tratamento repetido com a inosina também foi realizado, sendo que houve um efeito significativo entre os grupos ($F(2, 17) = 8.000, p < 0.01$). Todos os grupos tratados com metilfenidato mostraram um aumento da atividade locomotora na caixa de movimentação automatizada ($p < 0.01$), sem diferenças significativas entre os grupos tratados com metilfenidato (Fig.17).

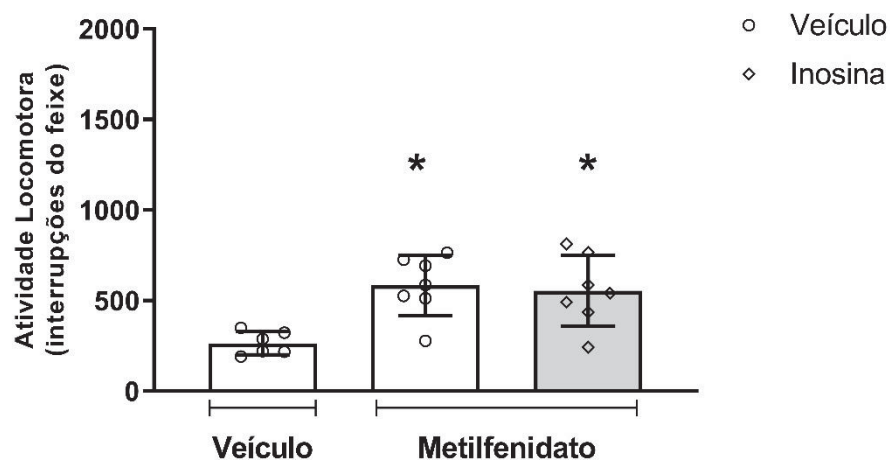


Figura 17. Efeito do tratamento repetido (14 dias) com inosina (50 mg/kg, ip) sobre a atividade locomotora de camundongos no modelo de hiperlocomção induzida por metilfenidato. Cada ponto representa um camundongo macho (n = 6-7) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. * $p \leq 0,05$ comparado com o grupo controle (veículo + veículo).

Fonte: O Autor.

4.5 Desafio farmacológico utilizando um antagonista adenosinérgico

O desafio farmacológico utilizando a aminofilina foi introduzido após observarmos que o dipiridamol foi capaz de reduzir a hiperlocomção induzida pelo metilfenidato.

A variável tratamento teve um efeito significativo ($F(3, 36) = 13.041, p < 0.01$). Além disto, todos os grupos tratados com metilfenidato tiveram um aumento da atividade locomotora.

O grupo dipiridamol + metilfenidato mostrou uma menor atividade locomotora quando comparado com os grupos veículo + metilfenidato e aminofilina + dipiridamol + metilfenidato, mostrando que a aminofilina foi capaz de inibir o efeito tipo antimaníaco do dipiridamol (Fig. 18).

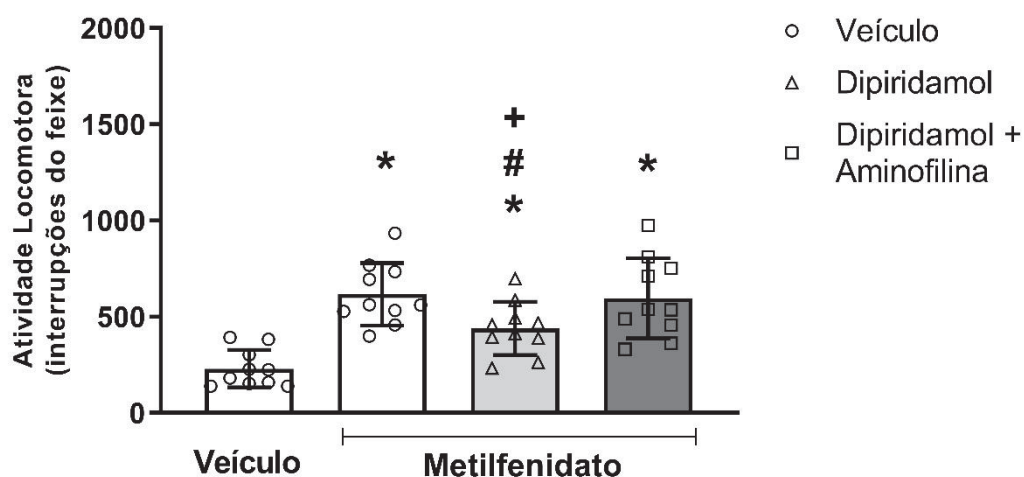


Figura 18. Desafio farmacológico com a aminofilina (2 mg/kg, ip) sobre o efeito do dipiridamol (20 mg/kg) na atividade locomotora de camundongos no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato. Cada ponto representa um camundongo (n= 5 machos + 5 fêmeas por grupo) enquanto as barras representam a média e o erro padrão da média. * $p \leq 0,05$ comparado com o grupo controle (veículo + veículo); # $p \leq 0,05$ comparado com o grupo metilfenidato + veículo; + $p \leq 0,05$ comparado com o grupo dipiridamol + aminofilina + metilfenidato.

Fonte: O Autor

5. DISCUSSÃO

No presente estudo foi avaliado o efeito de fármacos adenosinérgicos em um modelo de mania, a fim de buscar evidências sobre o possível papel do sistema adenosinérgico nos transtornos bipolares, em especial sobre o comportamento tipo maníaco, assim como realizamos uma triagem inicial sobre o potencial destes fármacos para o desenvolvimento de novos tratamentos para a mania.

O modelo selecionado para esta avaliação foi o da hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, um psicoestimulante. A hiperlocomoção induzida por psicoestimulantes é um dos modelos animais de mania mais utilizados para a busca de fármacos com possível atividade antimaníaca (YOUNG et al., 2011; DE MIRANDA et al., 2017; KANAZAWA, 2021). Para tanto, foi realizado previamente uma padronização do modelo, a fim de observar se nas nossas condições experimentais os resultados da literatura seriam reproduzidos.

Portanto, camundongos machos e fêmeas foram divididos em dois grupos: veículo e metilfenidato 5 mg/Kg, sendo cada um destes subdividido em dois outros grupos, dos quais um foi submetido a exposição prévia a caixa de movimentação e o outro não foi exposto à caixa. A exposição prévia é preconizada por alguns autores como Kelley (1993) para facilitar a detecção de um aumento da locomoção por fármaco psicoestimulante, pois o comportamento motor estaria intimamente ligado ao comportamento exploratório, ou seja, o aumento do comportamento motor dos animais pode ser influenciado por ambientes novos.

Os resultados nos mostraram que os camundongos que receberam a administração de metilfenidato mostraram uma maior atividade locomotora do que os camundongos do grupo controle, na caixa de movimentação automatizada. Este resultado nos mostra que o metilfenidato foi capaz de aumentar a atividade locomotora dos animais, corroborando com os resultados obtidos previamente em nosso laboratório, como os estudos de Barbosa e colaboradores (2011), Tonelli e col. (2013), Kanazawa e col. (2021) e Siba e col. (2022), além de outros estudos publicados na literatura (SOUZA et. al. 2016; YOUNG et. al. 2011).

Os camundongos que foram submetidos a exposição prévia (habituação) mostraram uma atividade locomotora semelhante à dos animais que não foram habituados previamente, indicando que, nas condições de experimento, a pré-exposição ao ambiente não influenciou sobre o comportamento locomotor dos

camundongos após a administração de metilfenidato. Deste modo, a habituação não foi introduzida nos experimentos seguintes.

Em seguida, realizamos a avaliação do efeito de fármacos adenosinérgicos isoladamente (*per se*) sobre a atividade locomotora dos camundongos. Isto é importante para determinação das doses a serem utilizadas nos modelos de mania, pois um eventual efeito sedativo ou estimulante do fármaco testado poderia induzir resultados falsos. Por exemplo, um fármaco poderia reduzir a hiperlocomoção induzida por metilfenidato devido ao seu efeito sedativo, sendo considerado um resultado falso positivo (YOUNG et al., 2011; DE MIRANDA et al., 2017), como observado com benzodiazepínicos (KANAZAWA et al., 2017).

No presente estudo foram avaliados o efeito do alopurinol, dipiridamol e da inosina em diferentes doses. Ao comparar a atividade locomotora dos camundongos que receberam alopurinol com o grupo controle, observamos que não houve diferença significativa entre os grupos, mostrando que o alopurinol por si só não alterou a atividade locomotora do animal. Estes dados corroboram com evidências na literatura, como a de Essawy e Elbaz (2013) que mostraram que o alopurinol nas doses de 50 mg/Kg e 200 mg/Kg não alterou a atividade locomotora de camundongos albinos submetidos ao teste do campo aberto e rotarod.

O dipiridamol nas doses de 10 mg/Kg e 20 mg/Kg não promoveu alterações na atividade locomotora dos camundongos, quando comparado com o controle. Este dado nos mostra que o dipiridamol, nas doses testadas, por si só não leva a alterações motoras. Revendo a literatura, não foram encontradas evidências do papel do dipiridamol isoladamente sobre o comportamento locomotor de camundongos ou de outros roedores. Apesar disto, algumas evidências clínicas mostram que o dipiridamol pode reduzir os sintomas motores de pacientes com síndrome das pernas inquietas (GARCIA-BORREGUERO et al. 2021) e, também, em um modelo animal de sarcopenia reumatoide, o dipiridamol melhorou a capacidade motora de camundongos no teste do rotarod (MARCO-BONILLA et al., 2023).

Assim como os demais fármacos, a inosina, nas doses de 10 mg/Kg e 50 mg/Kg, também não promoveu alteração locomotora significativa quando comparado com o grupo controle. Este resultado corrobora com estudos que mostraram que a inosina não promoveu alterações motoras, em camundongos e ratos, no teste do

campo aberto (CAMERINI et. al. 2020; GONÇALVES et. al. 2017; SHUAIA et. al. 2018).

Após a avaliação do efeito dos fármacos adenosinérgicos isoladamente na locomoção, avaliamos o efeito destes fármacos no modelo animal de mania proposto neste estudo.

A administração aguda ou repetida de alopurinol não foi capaz de reverter o aumento da atividade locomotora induzida pelo metilfenidato. Não existem evidências pré-clínicas de um efeito do alopurinol sobre comportamentos tipo maníacos. Uma hipótese para este resultado negativo seria o uso de uma dose baixa. Entretanto, as doses utilizadas neste estudo estão dentro da faixa farmacologicamente ativa do alopurinol em roedores, visto que Karve e colaboradores (2013) observaram que o alopurinol na dose de 39 mg/kg per oral apresentou efeito tipo antidepressivo no teste de natação forçada, sem alterar a atividade locomotora. Portanto, os dados sugerem que o tratamento agudo e repetido com alopurinol não mostrou um efeito tipo antimaníaco significativo. Diversos estudos clínicos e estudos de coorte avaliaram o papel do alopurinol na sintomas mania e no transtorno bipolar, apresentando resultados opostos sobre efeito do alopurinol na redução das alterações maníacas (LINTUNEN et. al. 2022; JAHANGARD et. al. 2014).

Machado-vieira e colaboradores (2001) são um dos primeiros grupos de pesquisa a estudar o papel do sistema purinérgico e do alopurinol sobre a mania. Em um estudo publicado em 2008, mostraram que o tratamento de quatro semanas com 600 mg/dia de alopurinol em associação com o lítio foi capaz de reduzir significativamente as alterações maníacas avaliados pela Escala de avaliação de mania de Young (Young Mania Rating Scale, YMRS), quando comparado com o grupo tratado apenas com lítio. Em outro estudo, eles mostraram que o tratamento com alopurinol em associação com o lítio foi capaz de melhorar os sintomas maníacos e reduzir os níveis plasmáticos de ácido úrico (MACHADO-VIEIRA et. al, 2012).

Akhondzadeh e colaboradores (2006), em estudo randomizado e duplo-cego, observaram um efeito positivo do tratamento com 300 mg/dia (8 semanas) de alopurinol sobre as alterações maníacas, avaliadas pela escala YMRS, em comparação ao placebo. Neste estudo, todos os pacientes foram também tratados com lítio e haloperidol.

Por outro lado, Fan e colaboradores (2012) não identificaram uma melhora da mania (avaliada pela YMRS) em pacientes tratados com alopurinol (300 mg/dia na primeira semana e 600 mg/kg a partir da segunda semana), após 6 semanas de tratamento. Em um estudo clínico randomizado multicêntrico, Weiser e colaboradores (2014) observaram que o tratamento adjuvante do alopurinol a estabilizadores do humor ou antipsicóticos, durante 6 semanas, não melhorou as alterações maníacas (avaliadas pela YMRS); por outro lado, não houve aumento de efeitos adversos ou piora dos sintomas clínicos.

Acredita-se que alguns fatores possam ter contribuído para estes resultados contraditórios, tais como o tratamento concomitante utilizado pelos pacientes do estudo (p.ex. lítio, valproato de sódio ou antipsicóticos), uma vez que não houve a padronização destes tratamentos concomitantes. Outro fator importante seria o consumo de cafeína, a qual é um antagonista de receptores de adenosina, uma vez que pacientes que não consomem cafeína e utilizaram alopurinol pareceram ter um efeito antimaniaco potencializado (FAN et al., 2014).

Bartoli e colaboradores (2017) realizaram um estudo de meta-análise sobre a eficácia do alopurinol como tratamento adjuvante na redução de sintomas maníacos na doença bipolar. Neste estudo, foram avaliados ensaios controlados randomizados que compararam o tratamento do alopurinol com os efeitos da administração de placebo. Este estudo mostrou que o alopurinol teve efeitos significativos sobre a redução das alterações maníacas, quando comparado com o grupo placebo, efeito que parece ser maior em pacientes com quadros mais graves. Apesar disto, estes resultados apresentam efeito clínico de pequeno a moderado. Nesta e em outras meta-análises sobre o papel do alopurinol na mania, os resultados são inconclusivos, havendo a necessidade de maior investigação (CHEN et al. 2018), o que suporta a realização do presente estudo.

Ainda não está claro o papel do alopurinol na redução das alterações maníacas no transtorno bipolar, mas existem evidências de que ele possa atuar no tratamento de doenças como depressão (ÖZGÜR et al., 2015) e no tratamento de comportamentos agressivos (LARA; BELMONTE-DE-ABREU; SOUZA, 2000), os quais estão associados com os TB, mas que não foram avaliadas no presente trabalho.

Em relação à eventual discrepância dos estudos clínicos com resultados positivos com alopurinol na mania com os resultados do presente estudo, algumas

hipóteses podem ser levantadas. Os estudos clínicos utilizaram o alopurinol, assim como o dipiridamol, em associação com fármacos anti-maníacos, como lítio e antipsicóticos, enquanto no presente estudo estes fármacos foram utilizados de forma isolada. Outro fator poderia ser as diferentes avaliações empregadas. Enquanto na clínica são utilizadas escalas (p.ex. YMRS), que avaliam múltiplas facetas da mania, sendo o aumento da atividade uma delas, no presente estudo foi utilizada apenas a hiperlocomoção. Finalmente, os estudos clínicos iniciais com novos fármacos são realizados em uma subpopulação de pacientes com TB (refratários ou intolerantes aos antimaníacos), enquanto nos modelos são empregados animais normais.

Assim como o alopurinol, a inosina não mostrou um efeito tipo antimaníaco significativo, tanto após a administração aguda como após as administrações repetidas. Na literatura revista, apenas um estudo investigou o papel da inosina em um modelo de mania. Neste estudo, ratos Wistar tratados inosina (25 mg/Kg) foram submetidos ao teste de hiperlocomoção induzida por cetamina. Os resultados mostraram que a inosina reduziu a hiperlocomoção nestes animais, o que foi considerado como um efeito tipo antimaníaco (CAMERINI *et al.*, 2020). A dose de 25 mg/Kg em ratos corresponde a 50 mg/Kg em camundongos (REAGAN-SHAW ET AL., 2007). Estes resultados podem estar relacionados a algumas diferenças metodológicas como a espécie de animal e o modelo animal utilizados, o que pode levar a diferentes efeitos comportamentais, reforçando a proposta do emprego de diferentes modelos animais para o estudo do potencial terapêutico de um fármaco.

Por outro lado, o dipiridamol mostrou efeitos interessantes após a administração aguda e repetida no modelo animal proposto neste estudo. A administração aguda de dipiridamol (20 mg/Kg) reduziu a atividade locomotora dos animais tratados com metilfenidato. Este resultado se repetiu após a administração repetida (14 dias) de dipiridamol nesta mesma dose. Estes resultados sugerem um potencial efeito tipo antimaníaco do dipiridamol, embora a hiperlocomoção pelo metilfenidato não tenha sido bloqueada, mas reduzida.

A partir dos resultados obtidos, foi avaliado se o efeito tipo antimaníaco do dipiridamol no modelo de hiperlocomoção induzida por metilfenidato é mediado por receptores adenosinérgicos. Para tanto, foi utilizado o desafio farmacológico com a administração prévia de aminofilina, que é um antagonista inespecífico de receptores de adenosina (Zangrossi *et al.*, 1992). Ao utilizar a aminofilina

previamente ao dipiridamol, houve uma inibição do efeito do dipiridamol na hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, quando comparado com os animais que foram tratados apenas com o dipiridamol. Este resultado sugere que os receptores de adenosina são fundamentais para o efeito tipo antimaníaco do dipiridamol neste modelo animal de mania.

Apesar de o dipiridamol não ser um agonista direto dos receptores de adenosina, ele é um modulador do sistema adenosinérgico, já que seu mecanismo se dá pela inibição dos transportadores de nucleosídeos ENT1 e ENT2, que leva ao aumento das concentrações de adenosina (Allahham et al., 2022). Estes resultados reforçam a hipótese da mediação adenosinérgica sobre o comportamento tipo maníaco e do potencial de fármacos que atuam neste sistema para o desenvolvimento de novos tratamentos da mania.

Além do aumento das concentrações de adenosina, o dipiridamol apresenta outros mecanismos que podem ter desempenhado um papel importante para os efeitos tipo antimaníacos observados e explicar, pelo menos em parte, porque os outros fármacos adenosinérgicos testados não apresentaram o mesmo perfil no modelo de mania. Dentre eles está o efeito antioxidante do dipiridamol, uma vez que, diversos autores mostraram que o estresse oxidativo está intimamente relacionado com as alterações maníacas (CIACCIARELLI et al., 2015; HODES et al., 2018).

O uso de substâncias antioxidantes, como a quercetina, parecem reduzir o comportamento tipo maníaco em modelos animais de mania. Além disto, a inibição do estresse oxidativo parece ser um mecanismo importante de fármacos já utilizados para o tratamento da mania, como o lítio e o valproato de sódio (FREY et al., 2006; KANAZAWA et al., 2017).

A inibição das fosfodiesterases é outro mecanismo que pode estar associado ao efeito do dipiridamol, uma vez que foi observado que fármacos desta classe podem atuar benéficamente em doenças psiquiátricas através da redução da neuroinflamação e do estresse oxidativo (SADEGHI et al., 2023).

O dipiridamol também parece ter efeitos promissores sobre outras doenças psiquiátricas, como a depressão e a esquizofrenia. No estudo de Da Silva e colaboradores (2015), o dipiridamol potencializou o efeito tipo antidepressivo da cetamina em zebrafish, aumentando o tempo de permanência destes animais no topo dos tanques de água.

O uso do dipiridamol em associação com haloperidol reduziu as alterações psicopatológicas em pacientes com esquizofrenia, avaliadas através da melhora da Escala das Síndromes Positiva e Negativa (*Positive and Negative Syndrome Scale*, PANSS), que pode estar associada a um efeito de interação entre adenosina e dopamina (AKHONDZADEH et al., 2000). Lintunen e colaboradores (2021) mostrou efeitos benéficos do dipiridamol na redução de hospitalizações em pacientes com esquizofrenia. Enquanto isto, Wonodi e colaboradores (2011) acreditam que embora a monoterapia com dipiridamol não tenha reduzido os sintomas na escala Escala de avaliação psiquiátrica breve (*Brief Psychiatric Rating Scale*, BPRS), o tratamento adjunto do dipiridamol com antipsicóticos é promissor. É interessante notar que os antipsicóticos são fármacos efetivos na mania.

Embora os resultados tenham sido bastante promissores, não foram encontrados na literatura estudos que avaliaram o efeito do dipiridamol sobre o comportamento tipo maníaco em animais. Portanto, os resultados obtidos neste trabalho são inéditos e importantes para futuras avaliações dos efeitos do dipiridamol sobre o comportamento tipo maníaco. Além disto, podem auxiliar na compreensão do papel do sistema adenosinérgico na fisiopatologia do TB.

Por outro lado, existem evidências clínicas, apesar de poucas, dos efeitos do dipiridamol sobre a mania em pacientes com TB. No estudo duplo-cego e randomizado de Machado-vieira e colaboradores (2018), os pacientes tratados com dipiridamol 200 mg/dia (em associação com o lítio) não mostraram uma melhora das alterações maníacas na YMRS após 4 semanas de tratamento. Como citado anteriormente, este mesmo estudo observou uma redução na pontuação da YMRS com alopurinol em associação ao lítio. Como comentado anteriormente, possíveis explicações para estas divergências entre este estudo clínico e os resultados do presente trabalho poderiam ser as diferenças nos tratamentos (em associação x isolado), na avaliação (multifacetada x unidimensional) e na população (refratários x normais).

Lintunen e colaboradores (2022), em um estudo de coorte realizado na Finlândia, avaliaram o efeito do dipiridamol, alopurinol e bloqueadores de canais de cálcio sobre o risco de hospitalizações decorrentes de sintomas afetivos em pacientes com TB. Neste estudo, apenas o uso de bloqueadores de canais de cálcio, como diltiazem e diidropiridinas, foram capazes de mostrar uma redução no risco de hospitalizações. Os resultados para pacientes tratados com dipiridamol e

alopurinol foram inconclusivos, sendo observado uma maior associação com redução do risco de hospitalizações apenas quando estes fármacos foram analisados conjuntamente.

Em geral, estes estudos clínicos não mostram efeitos significativos do dipiridamol sobre os sintomas maníacos. Por outro lado, são necessários mais estudos que avaliem os efeitos do dipiridamol sobre o comportamento maníaco em pacientes com TB, uma vez que são poucas as evidências disponíveis na literatura.

Por fim, o haloperidol foi utilizado como controle positivo na avaliação do efeito agudo dos fármacos adenosinérgicos. Dentre os resultados obtidos pode se observar que o haloperidol reduziu a hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, o que era esperado (SALDÍVAR-GONZÁLEZ et al., 2009).

Em resumo, os resultados deste trabalho nos mostram que o dipiridamol possui um efeito antimaníaco significativo no modelo animal de hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato. Por outro lado, este efeito não foi observado com o alopurinol e a inosina.

Um dos aspectos importantes neste estudo são os diversos métodos para redução de vieses, como a randomização dos camundongos aos diferentes grupos, o uso de camundongos machos e fêmeas, o cegamento na administração dos fármacos e o uso de um equipamento automatizado para a análise da atividade locomotora dos animais. Estes procedimentos aumentam o potencial de reprodutibilidade dos dados presentes neste estudo e a sua translação para estudos clínicos.

6. CONCLUSÕES

No presente estudo a administração aguda e repetida de dipiridamol atenuou a hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato em camundongos machos e fêmeas, o que não foi possível observar com a administração aguda ou repetida de alopurinol e inosina. O efeito tipo antimaníaco do dipiridamol foi bloqueado após a administração prévia de aminofilina, sugerindo que este efeito é dependente dos receptores adenosinérgicos.

Portanto, pode-se concluir que o dipiridamol possui potencial ação antimaníaca e que o sistema adenosinérgico participa da fisiopatologia da mania, sendo um alvo interessante para a pesquisa de novos tratamentos para este quadro.

7 REFERÊNCIAS

- AKHONDZADEH S, et al. Dipyridamole in the treatment of schizophrenia: adenosine-dopamine receptor interactions. *J Clin Pharm Ther.* 25(2):131-137, 2000.
- AKHONDZADEH, Shahin *et al.* Allopurinol as an adjunct to lithium and haloperidol for treatment of patients with acute mania: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Bipolar Disorders**, [s. l.], v. 8, n. 5 I, p. 485–489, 2006.
- ALLAHHAM, Mahmoud *et al.* Why Not Dipyridamole: a Review of Current Guidelines and Re-evaluation of Utility in the Modern Era. **Cardiovascular Drugs and Therapy**, [s. l.], v. 36, n. 3, p. 525–532, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10557-021-07224-9>. Acesso em: 11 jul. 2023.
- AMDISEN, Amdi. The history of lithium. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 522–523, 1987.
- ANUMONYE, A. *et al.* Uric-acid metabolism in manic-depressive illness and during lithium therapy. **Lancet**, [s. l.], v. 291, n. 7555, p. 1290–1293, 1968.
- ANGST, J.; SELLARO, R. Historical Perspectives and Natural History of Bipolar Disorder. **BIOL PSYCHIATRY**, v. 48, p. 445–457, 2000.
- ASGHAR, Sheila J. *et al.* Relationship of plasma amphetamine levels to physiological, subjective, cognitive and biochemical measures in healthy volunteers. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 291–299, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/hup.480>. Acesso em: 25 jun. 2023.
- ASHOK, et al. The dopamine hypothesis of bipolar affective disorder: the state of the art and implications for treatment. *Molecular Psychiatry*, v. 22, 666–679, 2017.
- BARANSKA, Jolanta. **Glioma Signaling**. [S. l.: s. n.], 2013.
- BARBOSA, F. J. Magnesium sulfate and sodium valproate block methylphenidate-induced hyperlocomotion, an animal model of mania. **Pharmacol Rep**, v. 63(1):64-70, 2011.
- BARTOLI, Francesco *et al.* Allopurinol as add-on treatment for mania symptoms in bipolar disorder: Systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **British Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 210, n. 1, p. 10–15, 2017.
- BARTOLI, Francesco *et al.* Repurposed drugs as adjunctive treatments for mania and bipolar depression: A meta-review and critical appraisal of meta-analyses of

randomized placebo-controlled trials. **Journal of Psychiatric Research**, [s. l.], v. 143, n. April, p. 230–238, 2021.

BIRNER, Armin *et al.* Increased breakdown of kynurenine towards its neurotoxic branch in bipolar disorder. [s. l.], 2017. Disponível em: <http://www.watcardio.at>. Acesso em: 11 jun. 2023.

BURNSTOCK, Geoffrey. Purinergic cotransmission. **Experimental Physiology**, [s. l.], v. 94, n. 1, p. 20–24, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/expphysiol.2008.043620>. Acesso em: 12 jun. 2023.

CALOVI, Stefano; MUT-ARBONA, Paula; SPERLÁGH, Beáta. Microglia and the Purinergic Signaling System. **Neuroscience**, [s. l.], v. 405, n. December, p. 137–147, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.12.021>.

CAMERINI, Laísa *et al.* Inosine prevents hyperlocomotion in a ketamine-induced model of mania in rats. **Brain Research**, [s. l.], v. 1733, n. January, p. 146721, 2020a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.146721>.

CAMERINI, Laísa *et al.* Inosine prevents hyperlocomotion in a ketamine-induced model of mania in rats. **Brain Research**, [s. l.], v. 1733, p. 146721, 2020b.

CARVALHO, A. F.; FIRTH, J.; VIETA, E. Bipolar Disorder. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 1, p. 58–66, 2 jul. 2020.

CIACCIARELLI M, *et al.* Dipyridamole: a drug with unrecognized antioxidant activity. **Curr Top Med Chem**.15(9):822-9, 2015.

CHAN, Hung Yu *et al.* A single-blind, comparative study of zotepine versus haloperidol in combination with a mood stabilizer for patients with moderate-to-severe mania. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 162–169, 2010.

CHATTERJEE, Seshadri Sekhar *et al.* Serum uric acid levels in first episode mania, effect on clinical presentation and treatment response: Data from a case control study. **Asian Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 35, n. February, p. 15–17, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2018.04.030>.

CHEFFER, A. *et al.* Purinergic system in psychiatric diseases. **Molecular Psychiatry**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 94–106, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2017.188>.

CHEN, *et al.* Allopurinol augmentation in acute mania: A meta-analysis of placebo-controlled trial. **Journal of Affective Disorders**, vol. 222, 2018.

- COLLINS, Lyndsey E. *et al.* Interactions between adenosine and dopamine receptor antagonists with different selectivity profiles: Effects on locomotor activity. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 211, n. 2, p. 148–155, 2010.
- CRADDOCK, Nick; SKLAR, Pamela. Bipolar Disorder 1 - Genetics of bipolar disorder. **The Lancet**, [s. l.], v. 381, n. 9878, p. 1654–1662, 2013. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60855-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60855-7).
- CUNHA, Rodrigo A. Neuroprotection by adenosine in the brain: From A1 receptor activation to A2A receptor blockade. **Purinergic Signalling**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 111–134, 2005.
- DA SILVA RB, SIEBEL AM, BONAN CD. The role of purinergic and dopaminergic systems on MK-801-induced antidepressant effects in zebrafish. **Pharmacol Biochem Behav**. V. 139:149-157, 2015.
- DIÓGENES, Maria José *et al.* Activation of Adenosine A2A Receptor Facilitates Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulation of Synaptic Transmission in Hippocampal Slices. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 24, n. 12, p. 2905–2913, 2004.
- DOME, Peter; RIHMER, Zoltan; GONDA, Xenia. Suicide risk in bipolar disorder: A brief review. **Medicina (Lithuania)**, [s. l.], v. 55, n. 8, 2019.
- DOS SANTOS OLIVEIRA, Pedro Miguel *et al.* Serum uric acid as a predictor of bipolarity in individuals with a major depressive episode. **Bipolar Disorders**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 235–243, 2019.
- EINAT, H. Establishment of a battery of simple models for facets of bipolar disorder: a practical approach to achieve increased validity, better screening and possible insights into endophenotypes of disease. **Behavior Genetics**. v. 37(1); p. 244-255, 2007.
- ESSAWY, S. S; ELBAZ, A. A. Role of adenosine receptors in the anti-nociceptive effects of allopurinol in mice. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, vol. 17, n.14, 2013.
- FAN, Alexander *et al.* Allopurinol augmentation in the outpatient treatment of bipolar mania: A pilot study. **Bipolar Disorders**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 206–210, 2012.
- FERRÉ, Sergi. Adenosine-dopamine interactions in the ventral striatum. Implications for the treatment of schizophrenia. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 133, n. 2, p. 107–120, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9342776/>. Acesso em: 26 jun. 2023.
- FIELDS, R. Douglas; BURNSTOCK, Geoffrey. Purinergic signalling in neuron-glia

interactions. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 423–436, 2006.

FREY et al. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. **Rev Psychiatr Neurosci**. 31(5), 2006.

GARCIA-BORREGUERO D. A Randomized, Placebo-Controlled Crossover Study with Dipyrindamole for Restless Legs Syndrome. **Mov Disord**, v. 36(10):2387-2392, 2021.

GESSA, Gian Luigi *et al.* Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. **European Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 5, n. SUPPL. 1, p. 89–93, 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8775765/>. Acesso em: 11 jun. 2023.

GONÇALVES, Maria Carolina Bittencourt *et al.* Adenosinergic-Dopaminergic Signaling in Mood Disorders: A Mini-Review. **Journal of Caffeine and Adenosine Research**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 94–103, 2020.

GONÇALVES, Priscila Samaha *et al.* Effect of repeated sodium valproate and topiramate administration on mania-like behaviors induced by methylphenidate in mice. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, [s. l.], v. 82, n. 4, p. 511–520, 2022.

GONÇALVES, Maria Carolina Bittencourt; ANDREJEW, Roberta; GUBERT, Carolina. The Purinergic System as a Target for the Development of Treatments for Bipolar Disorder. **CNS Drugs**, [s. l.], v. 36, n. 8, p. 787–801, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40263-022-00934-0>.

GONÇALVES *et al.* Signaling pathways underlying the antidepressant-like effect of inosine in mice. *Purinergic Signalling*, v. **13**, 203–214, 2017.

GRANDE, I. et al. Bipolar disorder. **The Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 1561–1572, abr. 2016.

GOULD et. al. Strain differences in lithium attenuation of d-amphetamine-induced hyperlocomotion: a mouse model for the genetics of clinical response to lithium. **Neuropsychopharmacology**, 32:1321–1333, 2007.

GÜRBÜZ ÖZGÜR, Börte *et al.* Antidepressant-like effects of the xanthine oxidase enzyme inhibitor allopurinol in rats. A comparison with fluoxetine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s. l.], v. 138, p. 91–95, 2015.

HARRISON, Paul J.; GEDDES, John R.; TUNBRIDGE, Elizabeth M. The Emerging Neurobiology of Bipolar Disorder. **Trends in Neurosciences**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 18–30, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2017.10.006>.

HASHIMOTO, K. Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: an historical overview and future directions. **Psychiatry and clinical neurosciences**, [s. l.], v. 64, n. 4, p. 341–357, 2010.

HIROTA, Tomoya; KISHI, Taro. Adenosine hypothesis in schizophrenia and bipolar disorder: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trial of adjuvant purinergic modulators. **Schizophrenia Research**, [s. l.], v. 149, n. 1–3, p. 88–95, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2013.06.038>.

HODES A, *et al.* Reduction in endogenous cardiac steroids protects the brain from oxidative stress in a mouse model of mania induced by amphetamine. **Brain Res Bull**, v.137:356-362, 2018.

JAGANNATH, Aarti *et al.* Adenosine integrates light and sleep signalling for the regulation of circadian timing in mice. **Nature Communications**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 1–11, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-021-22179-z>.

JAHANGARD *et. al*; In a double-blind, randomized and placebo-controlled trial, adjuvant allopurinol improved symptoms of mania in in-patients suffering from bipolar disorder. **European Neuropsychopharmacology**, Vol 24, 2014.

JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ, Sara *et al.* Oxidative stress parameters and antioxidants in adults with unipolar or bipolar depression versus healthy controls: Systematic review and meta-analysis. **Journal of affective disorders**, [s. l.], v. 314, p. 211–221, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35868596/>. Acesso em: 11 jun. 2023.

JOPE, R. S. Glycogen synthase kinase-3 in the etiology and treatment of mood disorders. **Frontiers in Molecular Neuroscience**. v. 4: 16, 2011.

JOPE, R. S.; YUSKAITIS, C. J.; BEUREL, E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics. **Neurochemical Research**. v. 32(4-5): 577–595, 2007.

KANAZAWA, *et al.* Effects of acute and chronic quercetin administration on methylphenidate-induced hyperlocomotion and oxidative stress. **Life Sci**, 2017.

KANAZAWA, Luiz K S *et al.* Effects of acute and chronic quercetin administration on methylphenidate-induced hyperlocomotion and oxidative stress. [s. l.], 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2017.01.007>. Acesso em: 11 jun. 2023.

KARVE, Ashwini V.; JAGTIANI, Sagar S.; CHITNIS, Kunal A. Evaluation of effect of allopurinol and febuxostat in behavioral model of depression in mice. **Indian Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 45, n. 3, p. 244–247, 2013.

- KATO, Tadafumi. Current understanding of bipolar disorder: Toward integration of biological basis and treatment strategies. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, [s. l.], v. 73, n. 9, p. 526–540, 2019.
- KELLEY A. E. Locomotor activity and exploration. In: Behavioural Neuroscience A Practical Approach, vol. II: , New York: IRL Press, pp. 1–21, 1993.
- KIM, In Soo; JO, Eun Kyoung. Inosine: A bioactive metabolite with multimodal actions in human diseases. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 13, n. November, p. 1–11, 2022.
- LARA, Diogo Rizzato; BELMONTE-DE-ABREU, Paulo; SOUZA, Diogo O. Allopurinol for refractory aggression and self-inflicted behaviour. **Journal of Psychopharmacology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 81–83, 2000.
- LINTUNEN J, et al. Adenosine modulators and calcium channel blockers as add-on treatment for schizophrenia. **npj Schizophrenia**, v. 7 , 2021.
- LOGAN, Ryan W.; MCCLUNG, Coleen A. Animal Models of Bipolar Mania: The Past, Present and Future. **Neuroscience**, [s. l.], v. 321, n. 3, p. 163–188, 2016.
- LOPES, L. V. *et al.* Adenosine A2A receptor facilitation of hippocampal synaptic transmission is dependent on tonic A1 receptor inhibition. **Neuroscience**, [s. l.], v. 112, n. 2, p. 319–329, 2002. Disponível em: <http://www.ibroneuroscience.org/article/S0306452202000805/fulltext>. Acesso em: 26 jun. 2023.
- MACHADO-VIEIRA, Rodrigo *et al.* Decreased Plasma Brain Derived Neurotrophic Factor Levels in Unmedicated Bipolar Patients During Manic Episode. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 61, n. 2, p. 142–144, 2007.
- MADIREDDY, Sahithi; MADIREDDY, Samskruthi. Therapeutic Interventions to Mitigate Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress-Induced Damage in Patients with Bipolar Disorder. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 23, n. 3, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35163764/>. Acesso em: 11 jun. 2023.
- MALLAKH et al. The Na,K-ATPase hypothesis for bipolar illness. **Biol Psychiatry**. V. 37:235-44, 1995.
- MALEWSKA-KASPRZAK, Magda Katarzyna; PERMODA-OSIP, Agnieszka; RYBAKOWSKI, Janusz. Disturbances of purinergic system in affective disorders and schizophrenia. **Psychiatria Polska**, [s. l.], v. 53, n. 3, p. 577–587, 2019.
- MARCO-BONILLA, M *et al.* POS1019 DIPYRIDAMOLE, A COMPOUND THAT

INCREASES EXTRACELLULAR ADENOSINE LEVELS, AS A THERAPEUTIC AGENT FOR RHEUMATOID SARCOPENIA. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [s. l.], v. 82, n. Suppl 1, p. 826 LP – 826, 2023. Disponível em: http://ard.bmj.com/content/82/Suppl_1/826.1.abstract.

MARZANI, Gabrielle; PRICE NEFF, Amy. Bipolar Disorders: Evaluation and Treatment. **American family physician**, [s. l.], v. 103, n. 4, p. 227–239, 2021.

MINASSIAN, Arpi *et al.* Amphetamine increases activity but not exploration in humans and mice. **Psychopharmacology**, [s. l.], v. 233, n. 2, p. 225–233, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00213-015-4098-4>. Acesso em: 25 jun. 2023.

MUTI, Matteo *et al.* Serum uric acid levels and different phases of illness in bipolar I patients treated with lithium. **Psychiatry Research**, [s. l.], v. 225, n. 3, p. 604–608, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2014.11.038>.

NISHIZAKI, Tomoyuki. ATP- and adenosine-mediated signaling in the central nervous system: adenosine stimulates glutamate release from astrocytes via A2a adenosine receptors. **Journal of pharmacological sciences**, [s. l.], v. 94, n. 2, p. 100–102, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14978344/>. Acesso em: 12 jun. 2023.

ORTIZ, Robin *et al.* Purinergic system dysfunction in mood disorders: A key target for developing improved therapeutics. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 57, p. 117–131, 2015.

PERCIE DU SERT N, et al. Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. *PLoS Biol.* 2020; 18(7):e3000411. doi: 10.1371/journal.pbio.3000411

PREUSS, Ulrich W. *et al.* Bipolar Disorder and Comorbid Use of Illicit Substances. **Medicina** 2021, Vol. 57, Page 1256, [s. l.], v. 57, n. 11, p. 1256, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1648-9144/57/11/1256/htm>. Acesso em: 25 jun. 2023.

QUINTERO, Javier; GUTIÉRREZ-CASARES, José R.; ÁLAMO, Cecilio. Molecular Characterisation of the Mechanism of Action of Stimulant Drugs Lisdexamfetamine and Methylphenidate on ADHD Neurobiology: A Review. **Neurology and Therapy**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 1489–1517, 2022.

RHEE, Taeho Greg *et al.* 20-Year Trends in the Pharmacologic Treatment of Bipolar Disorder By Psychiatrists in Outpatient Care Settings. **American Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 177, n. 8, p. 706–715, 2020.

- RING, H. A. *et al.* Plasma uric acid in patients receiving anticonvulsant monotherapy. **Epilepsy Research**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 241–244, 1991.
- ROWLAND, Tobias A.; MARWAHA, Steven. Epidemiology and risk factors for bipolar disorder. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, [s. l.], v. 8, n. 9, p. 251–29, 2018.
- SACCARO, L. F. *et al.* Inflammation, anxiety, and stress in bipolar disorder and borderline personality disorder: A narrative review. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, [s. l.], v. 127, p. 184–192, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33930472/>. Acesso em: 11 jun. 2023.
- SADEGHI, M. A., *et al.* Phosphodiesterase inhibitors in psychiatric disorders. **Psychopharmacology**, v. 240, p. 1201–1219, 2023.
- SALDÍVAR-GONZÁLEZ *et al.* Differential effect of clozapine and haloperidol on rats treated with methylphenidate in the open field test. *Proc West Pharmacol Soc.* V. 52:63-66, 2009.
- SCAINI, Giselli *et al.* Neurobiology of bipolar disorders: A review of genetic components, signaling pathways, biochemical changes, and neuroimaging findings. **Brazilian Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 42, n. 5, p. 536–551, 2020.
- SCOLA, Gustavo; ANDREAZZA, Ana Cristina. The role of neurotrophins in bipolar disorder. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, [s. l.], v. 56, p. 122–128, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25193130/>. Acesso em: 8 jun. 2023.
- SHARMA, Ajaykumar N. *et al.* Modeling mania in preclinical settings: A comprehensive review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 66, p. 22–34, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.11.001>.
- Shen J, Tomar JS. Elevated Brain Glutamate Levels in Bipolar Disorder and Pyruvate Carboxylase-Mediated Anaplerosis. **Front Psychiatry**. 2021.
- SHUAIA *et al.*; Inosine alleviates depression-like behavior and increases the activity of the ERK-CREB signaling in adolescent male rats. **NeuroReport**, v. 29(14):p 1223-1229, 2018.
- STEINAN, M. K. *et al.* Sleep problems in bipolar disorders: more than just insomnia. **Acta psychiatrica Scandinavica**, [s. l.], v. 133, n. 5, p. 368–377, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26590799/>. Acesso em: 11 jun. 2023.
- TERAO, Takeshi. Neglected but not negligible aspects of antidepressants and their

availability in bipolar depression. **Brain and Behavior**, [s. l.], v. 11, n. 8, p. 1–7, 2021.

THOMPSON, Rebecca J. *et al.* Purinergic Receptors in the Airways: Potential Therapeutic Targets for Asthma?. **Frontiers in Allergy**, [s. l.], v. 2, n. May, p. 1–16, 2021.

TOMASIK, J. *et al.* A machine learning algorithm to differentiate bipolar disorder from major depressive disorder using an online mental health questionnaire and blood biomarker data. **Translational Psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 41, 12 jan. 2021.

TONELLI D. A, *et. al.* The antimanic-like effect of phenytoin and carbamazepine on methylphenidate-induced hyperlocomotion: role of voltage-gated sodium channels. **Fundam Clin Pharmacol**. V. 27(6):650-655, 2013.

TONIN, Paula T. *et al.* Effects of ouabain on cytokine/chemokine levels in an animal model of mania. **Journal of Neuroimmunology**, [s. l.], v. 276, n. 1–2, p. 236–239, 2014. Disponível em: <http://www.jni-journal.com/article/S0165572814008844/fulltext>. Acesso em: 11 jun. 2023.

VIETA, E. *et al.* Bipolar disorders. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 18008, 8 mar. 2018.

WEISER, Mark *et al.* Allopurinol for mania: A randomized trial of allopurinol versus placebo as add-on treatment to mood stabilizers and/or antipsychotic agents in manic patients with bipolar disorder. **Bipolar Disorders**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 441–447, 2014.

WONODI I, *et al.* Dipyridamole monotherapy in schizophrenia: pilot of a novel treatment approach by modulation of purinergic signaling. **Psychopharmacology (Berl)**, 2011.

YAMASHITA, M. *et al.* Impaired cliff avoidance reaction in dopamine transporter knockout mice. **Psychopharmacology**, v. 227, n. 4, p. 741–749, jun. 2013.

YOUNG J. W. Predictive animal models of mania: hits, misses and future directions. **British Journal of Pharmacology**. v. 164, n. 4, p. 1263-1284, 2011.

YOUNG, Allan H.; JURUENA, Mario F. The Neurobiology of Bipolar Disorder. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, [s. l.], v. 48, n. January 2021, p. 1–20, 2021.

ZIMMERMANN, Herbert. Nucleotide signaling in nervous system development. **Pflugers Archiv : European journal of physiology**, [s. l.], v. 452, n. 5, p. 573–588, 2006.