



**FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

Dissertação de Mestrado

**ALTERAÇÕES DO FATOR NEUROTROFICO DERIVADO  
DO CÉREBRO EM PACIENTES COM TRANSTORNO DO  
HUMOR BIPOLAR**

Autora: Gislaine Speggiorin de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Flávio Kapczinski

MESTRADO

PORTO ALEGRE, 2009



**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS**

**ALTERAÇÕES DO FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO  
CÉREBRO EM PACIENTES COM TRANSTORNO DO HUMOR  
BIPOLAR**

Gislaine Speggorin de Oliveira

*Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação  
em Medicina: Ciências Médicas,  
da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, para obtenção  
do título de Mestre em Ciências  
Médicas.*

**Mestrado**

**2009**

## **Agradecimentos**

Ao Dr. Flávio Kapczinski, Professor orientador, pela acolhida, generosidade, estímulo e exemplo. Exemplo de competência e de sabedoria. Agregador e solidário, somente uma pessoa com suas características para manter um grupo diverso tão unido. Muito Obrigada.

A todos do grupo de pesquisa do Laboratório de Psiquiatria Molecular, que desde o primeiro contato me acolheram como uma antiga participante do grupo.

Em especial tenho que agradecer a Juliana Tramontina, pela apresentação ao grupo e incentivo. A Keila Cereser, grande Keila, uma pessoa impar, sempre pronta á ajudar, nunca um não ou talvez. A Brisa, pela disposição e ajuda no momento mais crítico. A Ana Cristina Andrezza pelo exemplo de paixão pela pesquisa, a Alice Cacilhas e ao Júlio Walz pelas palavras de motivação. A Bianca Aguiar, Bianca Pfaffenseller, Laura, Leonardo, Fernanda e Gabriel pelo apoio sempre.

Ao Fabiano, Elisa, Júlia, Larriany, Maurício, Adriane, Betina, Denise, Márcia, Gabriela, Fabria, e Pedro, companheiros sempre interessados e exemplos de

trabalho e motivação. Um grande e carinhoso abraço, cada sexta-feira um prazer de trabalhar.

Aos meus colegas do Prontopsiquiatria pelo apoio.

A todos os colegas do plantão da Emergência Psiquiátrica da Vila Cruzeiro pelo apoio, em especial a Dolores, Tânia, Fátima, Enfermeiras Laura e Deyse por ajudarem nas coletas.

Aos pacientes e voluntários que participaram do estudo pela compreensão e disponibilidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da UFRGS, em especial ao Fagner pela paciência.

A Prefeitura de Porto Alegre pelo apoio a pesquisa científica.

Por fim, aos meus familiares, meus pais Inês e José, ao meu filho Rafael e ao Jorge, meu amigo e companheiro de todos os momentos. A eles meu imenso carinho e gratidão.

## Resumo

**Introdução:** O transtorno do humor bipolar (THB) tem sido associado cada vez mais com anormalidades da neuroplasticidade, e estudos têm demonstrado que o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (*Brain-Derived Neurotrophic Factor* - BDNF) desempenha um papel na patofisiologia dos transtornos do humor. Estudos com pacientes não medicados comparados aos medicados são necessários para avaliar o papel da medicação nos níveis séricos do BDNF.

**Objetivo:** Avaliar os níveis de BDNF em pacientes bipolares não medicados e compará-los com pacientes bipolares medicados e ambos com controles saudáveis.

**Metodologia:** Para avaliarmos as possíveis alterações dos níveis de BDNF, foi coletado sangue de vinte e dois pacientes bipolares tipo I maníacos ou depressivos não medicados e 22 pacientes bipolares tipo I medicados, comparados com 22 controles saudáveis, pareados por sexo e idade. Os pacientes foram avaliados usando SCID-I, YMRS e HDRS. Os pacientes não medicados não estavam recebendo medicação há pelo menos duas semanas. Os níveis séricos do BDNF foram medidos por "ELISA sanduíche".

**Resultados:** Níveis séricos de BDNF em pacientes bipolares medicados e não medicados estavam diminuídos quando comparados com controles ( $0,2\pm 0,09$ ;  $0,29\pm 0,19$  e  $0,40\pm 0,12$ , respectivamente,  $p < 0,001$  para não medicados/medicados vs. controles). O BDNF não diferiu entre pacientes bipolares medicados e não medicados. Quando analisados de acordo com o estado de humor, os níveis séricos de BDNF foram mais baixos em pacientes bipolares durante ambos os episódios (maníaco e depressivo), quando comparados com controles sem a doença ( $0,28\pm 0,11$ ,  $0,22\pm 0,17$  e  $0,40\pm 0,12$ , respectivamente,  $p < 0,001$  para pacientes bipolares vs. controles)

**Conclusões:** Os resultados sugerem que a diminuição dos níveis séricos de BDNF podem estar associados com a patofisiologia dos sintomas no THB. Os níveis séricos do BDNF não diferiram entre os pacientes bipolares medicados e não medicados.

## LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

APA- Associação Psiquiátrica Americana  
BDNF- Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro  
CPF – Córtex Pré-Frontal  
CREB - Proteína ligada ao fator de transcrição do AMPc  
DA - Dopamina  
DNA – Acido Desoxiribonucléico  
DSM – Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtorno Mentais  
GABA- Ácido Gama Amino-Butírico  
GSK3 - Glicogênio Sintase Quinase 3  
HAM-D – Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton  
HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
NGF – Fator de Crescimento do Nervo  
PET – Tomografia por Emissão de Pósitrons  
RNA – Acido Ribonucléico  
SCID - Entrevista Diagnóstica Clínica Estruturada  
SNC - Sistema Nervoso Central  
THB - Transtorno de Humor Bipolar  
TrkA – Proteína Tirosina Quinase A  
TrkB- Proteína Tirosina Quinase B  
TrkC – Proteína Tirosina Quinase C  
UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
YMRS – Escala de Avaliação de Mania de Young

## SUMÁRIO

<b>1. Revisão de Literatura.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1. Características Clínicas do Transtorno do Humor Bipolar.....</b>	<b>8</b>
<b>1.2. Fisiopatologia.....</b>	<b>10</b>
<b>1.3. Neurotrofinas.....</b>	<b>14</b>
<b>1.4. BDNF.....</b>	<b>17</b>
<b>1.5. Estabilizadores do Humor.....</b>	<b>17</b>
<b>2. Justificativa.....</b>	<b>21</b>
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>22</b>
<b>3.1. Objetivo Geral.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2. Objetivos Específicos.....</b>	<b>22</b>
<b>4. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>23</b>
<b>5. Artigo.....</b>	<b>34</b>
<b>6. Considerações finais.....</b>	<b>39</b>

## TRANSTORNO DE HUMOR BIPOLAR

### 1. Revisão de Literatura

#### 1. 1. *Características Clínica do Transtorno do humor Bipolar (THB)*

O Transtorno de Humor Bipolar (THB) é um transtorno mental grave, crônico e incapacitante, com episódios recorrentes, estando associado à elevada morbidade clínica (Kilbourne et al., 2004). Acomete de 1-3% da população e está associado a um alto índice de suicídio e desemprego (Weissman et al., 1996; Müller-Oerlinghausen, Berhofer e Bauer 2002; Grant et al., 2005). O *Epidemiological Catchment Area* (ECA-NIMH) (Weissman et al., 1996), conduzido nos Estados Unidos a partir de 1980, com amostra de aproximadamente 20 mil pessoas, mostrou uma taxa de prevalência de 0,8% do THB tipo I. No Brasil foi encontrada a prevalência de 0,7% na população de Porto Alegre/RS (Almeida Filho et al., 1997).

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, o THB é considerado a sexta causa de incapacidade entre as condições médicas e psiquiátricas em pessoas com 15 a 44 anos (Lopez e Murray, 1998). O curso clínico do THB é crônico, usualmente caracterizado por períodos de exacerbação dos sintomas (episódios agudos) intercalados por períodos subsindrômicos e períodos de remissão (eutimia). A média de tempo entre o aparecimento dos primeiros sintomas e o primeiro tratamento é de aproximadamente dez anos (Leverich e Post, 2006). Em um estudo de seguimento, que acompanhou pacientes bipolares tipo I por um período médio de 13 anos, observou-se que os pacientes permaneceram metade deste período sintomáticos (Judd et al., 2002). Além disto, observa-se que a persistência de sintomas subsindrômicos está associada a um maior risco de reagudização da doença (Perlis et al., 2006) e maior índice de incapacitação (Judd et al., 2005).



A ocorrência de pelo menos um episódio maníaco ou hipomaníaco durante a vida é suficiente para a identificação do THB, na qual a presença de episódio maníaco confere o diagnóstico de THB tipo I, enquanto a presença de episódio hipomaníaco, sem a ocorrência de episódio maníaco, confere o diagnóstico de THB tipo II (APA, 2000; Belmaker, 2004). O episódio maníaco é definido, segundo a Associação Psiquiátrica Americana (APA, 2000), por um período distinto de humor anormal e persistentemente elevado, expansivo ou irritável, acompanhado por pelo menos três dos seguintes sintomas (quatro se humor irritável):

- a) grandiosidade ou auto-estima inflada;
- b) taquilalia ou pressão por falar;
- c) diminuição da necessidade do sono;
- d) experiência subjetiva de que os pensamentos estão correndo ou fuga de idéias;
- e) distraibilidade;
- f) alteração do comportamento dirigido para atividades prazerosas, freqüentemente imprudentes ou perigosas;
- g) agitação psicomotora.

O THB tipo I é caracterizado por um ou mais episódios maníacos ou mistos, geralmente acompanhados por episódios depressivos maiores, enquanto que no THB tipo II não ocorrem episódios maníacos, somente episódios hipomaníacos (APA, 2002).

O episódio deve ser grave o suficiente para causar prejuízo significativo no âmbito familiar, social ou ocupacional, necessidade de hospitalização ou ter presença de sintomas psicóticos. Devido ao curso crônico e a freqüente reincidência e gravidade dos sintomas de humor, o tratamento do THB baseia-se atualmente no manejo dos episódios agudos e no tratamento de manutenção como prevenção para ocorrência de novos episódios (Yatham et al., 2005). Estudos mostram que a demora no diagnóstico e o número maior de crises

refletem uma piora cognitiva e clínica do paciente (Gazalle et al., 2005). Além disto, estudos indicam que alterações neuroquímicas induzidas pela mania estão associadas ao surgimento de neurotoxicidade (Post et al., 1982; Friedman et al., 1993; Johnston-Wilson et al., 2000). O objetivo do tratamento é a remissão, mantendo os pacientes eutímicos, pois esta teria um efeito neuroprotetor, uma vez que os episódios maníacos e depressivos estão associados aos efeitos de danos ao DNA e neurotoxicidade (Andreazza et al., 2006).

Os índices de refratariedade aos medicamentos de primeira linha são bastante elevados. Dois estudos que avaliaram indivíduos bipolares tratados em instituições acadêmicas demonstraram que uma alta porcentagem dos pacientes permanece sintomática, mesmo quando “adequadamente tratados” (Post et al., 2003; Dennehy et al., 2005). Mesmo que os medicamentos de última geração possuam um melhor perfil de tolerabilidade e segurança em relação aos tradicionais, muito pouco se adicionou, do ponto de vista da eficácia, em relação aos primeiros medicamentos (Castrén, 2005). Uma das causas da inexistência de psicofármacos mais efetivos é o pouco conhecimento da fisiopatologia acerca do THB (Zarate, Singh e Manji, 2006).

## **1.2. Fisiopatologia**

Pouco ainda se sabe sobre a etiologia e neurobiologia do THB, apesar do grande impacto e incapacidade que causa na população; trata-se de um quadro complexo de interação gene-ambiente (Shaltiel, Chen e Manji, 2006). As bases biológicas do THB incluem fatores relacionados à genética, às vias neuro-hormonais, neurotransmissão, vias de transcrição de sinal, regulação da expressão gênica, alterações do sistema imunológico, estresse oxidativo e neuroplasticidade. Estudos genéticos têm sugerido, fortemente, que a patofisiologia pode ser explicada, pelo menos em parte, por fatores genéticos

(Lenox, Gould e Manji, 2002). Existem diversas evidências mostrando o envolvimento das espécies reativas do oxigênio em diversas patologias, especialmente nos transtornos neurológicos e psiquiátricos; sabe-se que o sistema nervoso central é suscetível ao estresse oxidativo (Takuma, Baba e Matsuda 2004). Estudos têm demonstrado alterações nas enzimas antioxidantes nos eritrócitos de pacientes com THB (Kuloglu et al., 2002; Ranjekar et al., 2003; Ozcan et al., 2004); outro estudo encontrou um aumento dos níveis da proteína S100B durante episódios maníacos (Machado-Vieira et al., 2002).

Estudos com gêmeos têm demonstrado que no THB há uma concordância de 70% entre monozigóticos e cerca de 30 % em dizigóticos (Kelsoe, 2003).

Estudos familiares, estudos com gêmeos e estudos de adoção demonstram claramente que a hereditariedade genética é um dos fatores determinantes para o desenvolvimento da doença (Craddock e Jones, 1999). Comparando com outras doenças, a hereditariedade do THB é maior do que a do câncer de mama e do diabetes tipo II, sendo que o risco de um familiar em primeiro grau de um indivíduo afetado desenvolver a doença é 10 vezes maior que o risco da população em geral (Craddock, O'Donovan e Owen, 2005).

Estudos de imagem de cérebro *pos-mortem* têm revelado um número de anormalidades estruturais no cérebro de indivíduos com THB. Estas anormalidades incluem redução no volume do córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo em exames de ressonância magnética (Pearlson, 1999). Redução da densidade neuronal e glial, também em cérebros *pos-mortem*, foram relatados por Rajkowska et al (2001). Pearlson e Veroff relataram alargamento de ventrículos em jovens com THB. Estudos de neuroimagem têm revelado anormalidades fronto-límbicas e fronto-estriatais em crianças bipolares. Estes estudos indicam que atrofia neuronal e perdas celulares podem contribuir para a patofisiologia da depressão e THB (Kapczinski et al., 2008).

Já os estudos neurofuncionais, baseados em ressonância magnética funcional e tomografia por emissão de pósitrons (PET), apontam para uma diminuição significativa do metabolismo do CPF durante a depressão e subsequente aumento em algumas regiões do CPF durante a fase maníaca (Malhi et al., 2004; Strakowski, DelBello e Adler, 2005). Além disso, a diminuição do metabolismo do CPF parece estar acompanhada de um aumento no metabolismo da amígdala e do estriado, sugerindo que alterações no circuito que compreende o CPF, sistema límbico e gânglios da base podem estar associadas à fisiopatologia do THB.

No que se refere ao hipocampo, embora a maioria dos estudos não tenha encontrado alterações do seu volume no THB, três grupos independentes que utilizaram a técnica de espectroscopia por ressonância magnética observaram uma diminuição do N-acetil-aspartato (um marcador de viabilidade neuronal) no hipocampo de indivíduos bipolares (Bertolino et al., 2003; Deicken et al., 2003; Atmaca et al., 2006), sugerindo uma diminuição do funcionamento dos neurônios hipocámpais no THB. Indivíduos com THB também apresentam diminuição da arborização de dendritos apicais, bem como diminuição da densidade de espinhas dendríticas em neurônios piramidais (Rosoklija et al., 2000), e diminuição do número de neurônios não-piramidais na região CA2 (Benes et al., 1998). Uma avaliação mais detalhada destas alterações neuropatológicas sugere que estas modificações seguem um padrão de alteração no desenvolvimento neuronal e de neuroplasticidade, e não um padrão de degeneração cerebral como previamente se pensava (Rajkowska, 2003).

Estudos conduzidos em tecido *pos-mortem*, nesta mesma linha, revelaram que indivíduos bipolares apresentam uma diminuição significativa de células neuronais e gliais no CPF dorsolateral e no CPF subgenua (Öngur, Drevets e Price, 1998; Rajkowska, Halarie e Selemon, 2001; Bouras et al., 2001). Estas deficiências poderiam ser indicativas de:

- a) resultado de alguma anomalia do desenvolvimento que poderia ocasionar uma maior suscetibilidade;

- b) mudanças compensatórias a outros processos patogênicos ou ainda;
- c) seqüelas de episódios recorrentes do THB. (Drevets, Manji e Duman, 2001)

Vários estudos têm demonstrado que antidepressivos e estabilizadores de humor atuam modulando diversas cascatas de sinalização celulares envolvidas em neuroplasticidade e sobrevivência neuronal (Manji, Drevets e Charney, 2001; Schaltiel, Chen e Manji, 2006). A primeira evidência deve-se a Duman, que demonstrou que o uso crônico de antidepressivos e de choques eletroconvulsivos aumentam a expressão do RNAm do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), do seu receptor TrkB (receptor tirosina-quinase B) e do fator de transcrição nuclear CREB (*cAMP response element binding*) em hipocampo de ratos (Nibuya, Morinobu e Duman 1995; Nibuya, Nestler e Duman. 1996). Posteriormente, estudos pré-clínicos demonstraram que o tratamento crônico com lítio ou valproato (medicamentos de primeira linha para o tratamento do THB) também são capazes de aumentar a expressão do BDNF no córtex frontal e hipocampo (Fukumoto et al., 2001; Einat et al., 2003). Além disso, os estabilizadores de humor possuem outros mecanismos de ação em comum, como inibição da GSK-3 $\beta$  (*glycogen synthase kinase 3-beta*), uma proteína que regula vias de sobrevivência e morte celular, e diminuição de inositol, um precursor da via de sinalização do fosfatidilinositol (Coyle e Manji 2002; Williams et al., 2002).

Um estudo de PET demonstrou que o tratamento com valproato de sódio reduziu a captação de  $^{18}\text{F}$ -DOPA no estriado de pacientes bipolares em episódio maníaco, o que sugere uma diminuição da função dopaminérgica pré-sináptica após o uso deste fármaco (Yatham et al., 2002). Modificações de receptores dopaminérgicos no THB têm sido demonstrados em dois estudos que observaram um aumento de 25% da expressão do RNAm do receptor D1 na região CA2 do hipocampo (Pantazopoulos et al., 2004) e uma menor expressão do receptor D3 em linfócitos de indivíduos bipolares (Vogel et al., 2004). Mais recentemente, tem sido sugerido que variações do gene do transportador de DA podem estar envolvidas na suscetibilidade para o desenvolvimento do THB (Greenwood et al.,

2006). Em conjunto, estes estudos indicam que alterações do sistema dopaminérgico podem estar envolvidas nos mecanismos fisiopatológicos do THB.

Estas evidências levam a um passo adiante em relação à antiga “hipótese monoaminérgica”, a qual sugeria que os transtornos de humor seriam causados por uma deficiência de monoaminas, particularmente de serotonina e norepinefrina (Schildkraut, 1965). Atualmente acredita-se que os transtornos de humor estão associados a alterações no sistema de comunicação entre os circuitos cerebrais reguladores do humor, e que antidepressivos e estabilizadores do humor ativarão cascatas de sinalização que regulam a plasticidade e sobrevivência celular, com subsequente melhora gradativa da transmissão da informação nestes circuitos cerebrais (Manji, Drevets e Charney, 2001; Nestler et al., 2002; Coyle e Duman, 2003; Castrén, 2005).

### **1.3. Neurotrofinas**

Em 1953, foi identificada a primeira neurotrofina. Tratava-se do Fator de Crescimento do Nervo (Nerve Growth Factor – NGF). Esta descoberta abriu um horizonte extremamente vasto na neurobiologia para a identificação e elucidação das funções celulares.

Quase trinta anos após a identificação do NGF como o protótipo das neurotrofinas para neurônios do sistema nervoso autônomo, foi isolado (1982), em neurônios de porcos, um homólogo do NGF, que foi chamado de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (Brain-Derived Neurotrophic Factor – BDNF). A partir de então, quatro membros adicionais da família das neurotrofinas foram identificados: Neurotrofina-3 (Neurotrophin-3 – NT-3) em 1990, Neurotrofina-4/5 (Neurotrophin-4/5 – NT-4/5) em 1991, Neurotrofina-6 (Neurotrophin-6 – NT-6) em 1994 e Neurotrofina-7 (Neurotrophin-7 – NT-7) em 1998 (Lessmann, Gottmann e Malsangio, 2003, Walz et al., 2007).

A descoberta dos receptores das neurotrofinas ocorreu muitas décadas após a identificação do NGF, a primeira neurotrofina identificada, sendo um avanço gigantesco na neurobiologia, especialmente porque forneceu ferramentas para a busca das rotas controladas pelas neurotrofinas (Ras, Rap-1, Cdc-42-Rac-Rho, como também MAPK, ERK, PI-3-kinase e phospholipase-C-C- $\gamma$  {PLC- $\gamma$ }). Estas vias de sinalização intracelulares moduladas pelas neurotrofinas estão envolvidas não apenas em mecanismos patológicos relacionados a eventos da doença, como também na modulação de plasticidade fisiológica. Como exemplo, cita-se a facilitação da memória em roedores e ativação de MAPK na região do CA1 pelo NGF (Walz et al., 2000).

A família dos receptores tirosina-quinases – Trk – é composta por três receptores que podem ser ativados por uma ou mais neurotrofinas: NGF, BDNF, NT-3 e NT-4/5. A presença de TrkA, TrkB ou TrkC confere responsividade, respectivamente, ao NGF, BDNF ou NT-4/5 e NT-3. A presença ou ausência de cadeias curtas de aminoácidos na região de cada receptor tem demonstrado regular a especificidade da resposta ao receptor TrkB.

O receptor pan-neurotrofina, p75<sup>NTR</sup>, também regula a resposta aos receptores Trk. Na presença de p75<sup>NTR</sup>, o NT-3 é muito menos efetivo em ativar a TrkA, e o NT-3 e o NT-4/5 são muito menos efetivos em ativar a TrkB. Em outras palavras, a presença de p75<sup>NTR</sup> aumenta a especificidade do TrkA e do TrkB aos seus ligantes primários, NGF e BDNF, respectivamente (Huang, Reichardt, 2003).

O p<sup>75ntr</sup> é um pan-receptor das neurotrofinas. NT4 e BDNF, tendo uma afinidade especial para TrkB, NGF para TrkA e NT3 para TrkC; todavia estudos mostram que esta neurotrofina pode ser ativada por TrkB e A em algumas situações.

Estudos sobre as relações entre as neurotrofinas, seus receptores e os seus efeitos ainda estão em andamento e muito precisa ser compreendido, justamente

devido à grande complexidade destas relações, além das cascatas específicas que ativam. Ou seja, as diferentes ativações dos TrKs têm diferentes conseqüências nas diferentes ilhas neuronais (Huang e Reichardt, 2003; Lewis et al., 2006). Em oncologia, por exemplo, já se sabe que quando o TrKC e/ou TrKA está significativamente expresso, o neuroblastoma é de melhor prognóstico, correlacionando-se com a sobrevivência do paciente. No entanto, quando o TrkB, ativado pelo BDNF, está fortemente expresso, encontramos-nos diante de um quadro altamente desfavorável para a sobrevivência do paciente (Schramm et al., 2005).

Nos estudos sobre modelos de depressão, os antidepressivos aumentam a sinalização do TrkB, sendo esta dependente da concentração de BDNF (Saarelainen et al., 2003). Além disto, uma das vias que sabidamente previnem contra a apoptose é a cascata de sinalização promovida pela ligação do BDNF ao seu receptor TrkB (BDNF/TrkB) (Barde, 1994). Vários estudos têm sugerido que a indução do BDNF/TrkB é um dos mecanismos responsáveis pelos efeitos terapêuticos dos estabilizadores do humor e dos antidepressivos (Nibuya, Morinobu e Duman, 1995; Coyle e Duman 2003). Por exemplo, tem sido demonstrado que o uso do lítio modula a fosforilação do receptor TrkB e do CREB (Einat et al., 2003; Rantamäki et al., 2006).

Conforme o exposto acima, podemos ver que as neurotrofinas promovem um jogo excepcionalmente variado de respostas que requerem, por sua vez, um mecanismo altamente regulado de transdução de sinal (Schramm et al., 2005), onde o antagonismo pode exercer um papel importante na biologia das neurotrofinas (Brodski, Schürch e Dechan, 2000).

O que se sabe, e parece ser consenso entre os autores, é que o aumento das neurotrofinas tem a função prioritária de proteger os neurônios da excitotoxicidade (Lessmann, Gottmann e Malcangio, 2003), mesma função protetora descrita para os estabilizadores de humor (Shao, Young e Wang, 2005). Ou seja, as



neurotrofinas têm sido descritas como promotoras da plasticidade neuronal, desempenhando papéis na neuroproteção e reorganização, funcionando como um mecanismo de compensação endógeno para promover regeneração e reparação no SNC (Felderhoff-Mueser et al., 2002). Existem várias evidências indicando que as neurotrofinas modulam a transmissão sináptica por mecanismos pré-sinápticos ou pós-sinápticos (Schuman, 1999).

#### **1.4 BDNF**

O BDNF foi descoberto em 1982 (Barde YA et al., 1982), como a segunda de uma família de moléculas com atividade neurotrófica, cuja primeira a ser identificada foi o NGF (nerve growth factor) (Levi- Montalcini R e Hamburger V, 1951).

O BDNF é considerado a principal neurotrofina do cérebro, sendo produzido principalmente pela glia e também pelo núcleo dos neurônios. O BDNF tem grande expressão no hipocampo, neocórtex, amígdala e cerebelo (Shimizu E et al., 2003). Também é responsável pela modulação de diversas funções sinápticas, induzindo estímulo á maturação, nutrição, crescimento e integridade neuronal.

As neurotrofinas, em especial o BDNF, parecem estar implicadas na base fisiopatológica de diversas doenças neurodegenerativas e psiquiátricas. Evidências clínicas e pré-clínicas indicam que o BDNF desempenha papel fundamental na plasticidade neuronal e memória. O BDNF parece mediar os principais processos dependentes de estímulo externo, isto é, aprendizado, experiências, memórias, ou seja, as suas características o tornam um potencial mediador neurobiológico dos efeitos das experiências de vida. Ainda, a exposição ao estresse diminui os níveis de BDNF em modelos animais (Murakami et al., 2005). Por sua vez, os antidepressivos e os estabilizadores do humor são capazes de aumentar os níveis séricos de BDNF (Frey et al., 2006). A administração crônica de antidepressivos aumenta a expressão de BDNF no hipocampo, bem

como no córtex pré-frontal. (Duman et al. 2000). Também tem sido demonstrado que o tratamento crônico com lítio e ácido valpróico aumenta a expressão do BDNF em cérebro de ratos. (Fukumoto et al., 2001).

Os antidepressivos inibidores da recaptação da serotonina, embora inibam a recaptação de serotonina em poucas horas, possuem início de ação em geral após duas semanas. Este fato sugere que esta classe de antidepressivos possa atuar através de mudanças adaptativas na transdução de sinal intracelular. (Nestler et al., 2002; Gonul et al., 2005). A serotonina tem efeitos protetores neuronais através da ativação do AMPc e CREB, que levam a expressão do BDNF. (Zuccato e Cattaneo, 2007).

Os estressores psicossociais têm demonstrado influenciar o surgimento de episódios maníacos. A perda parental precoce está associada com maior risco de desenvolvimento do THB. (Mortensen et al., 2003). Há um crescente interesse na compreensão da interação dos traumas psicológicos com alterações biológicas no THB. Recentemente, foi demonstrada a associação de história de abuso sexual ou físico na infância, com níveis séricos diminuídos de BDNF em pacientes bipolares adultos (Kauer-Sant'Anna et al., 2007).

Existe um crescente corpo de evidências sugerindo que a via de sinalização do BDNF/TrkB parece estar envolvida na fisiopatologia dos transtornos do humor, bem como na ação dos antidepressivos e dos estabilizadores de humor (Hashimoto et al., 2004).

Os níveis de BDNF podem ser um potencial biomarcador para THB. Níveis de BDNF, além disso, podem ser um potencial preditor do tratamento e indicador prognóstico no THB. O uso de medicação tem classicamente sido considerado uma limitação na grande parte dos estudos referentes à neurotrofinas. Os estudos com pacientes sem uso de medicação (*drug free*) são escassos. Dois trabalhos recentes estudaram pacientes sem uso de medicação; um se deteve em pacientes

com episódio maníaco (Machado-Vieira et al., 2002), enquanto o outro estudou pacientes bipolares tipo I e II eutímicos (Monteleone et al., 2008). Inexistem pesquisas em pacientes bipolares em episódio depressivo sem uso de medicação. Desta forma se verifica a necessidade de mais estudos com pacientes bipolares *drug free*. Nosso estudo pretende preencher esta lacuna; para tal estudamos pacientes bipolares tipo I em episódios maníacos e depressivos com e sem uso de medicação.

### **1.5 Estabilizadores de Humor**

A farmacoterapia do THB visa prevenir novos episódios de depressão e mania. Os estabilizadores de humor, especialmente valproato e lítio, são considerados a primeira linha de prevenção e manutenção do THB (Yatham et al., 2005). Estudos mostram que os efeitos neuroprotetores do lítio e valproato podem ser os responsáveis pelos seus efeitos terapêuticos e um dos mecanismos seria o da liberação de neurotrofinas (Laeng et al., 2004; Cunha et al., 2006; Rosa et al., 2006).

O tratamento crônico com valproato e lítio em doses terapêuticas, produz efeitos protetores contra excitotoxicidade e morte celular induzidas pelo glutamato (Shao 2005). Em relação ao BDNF, existem muitas evidências quanto ao seu papel em longo prazo na plasticidade sináptica no hipocampo e no néo-córtex. A aplicação de BDNF exógeno realça a eficácia pré-sináptica aumentando a liberação do glutamato em sinapses excitatórias (Lessmann, Gottmann e Malsangio, 2003).

Especificamente sobre lítio, sabe-se que ele proporciona uma regulação positiva na sobrevivência celular além de prevenir a apoptose e o retardo da neurogênese após danos agudos no cérebro (Wada, 2005).

Estudos de cultura neuronal de ratos demonstraram que o valproato apresenta efeito neurogênico superior ao BDNF ou NT-3, além de exceder levemente os efeitos neurogênicos obtidos pelo lítio, não sendo observados estes efeitos com a aplicação de carbamazepina, outro estabilizador de humor.

Como visto anteriormente, a literatura sugere que o NT-3 estimula a ação gabaérgica. Um mecanismo de ação clássico proposto para o valproato é via redução da degradação do GABA. Experimentos recentes têm mostrado que um outro mecanismo possa também ser responsável pela ação do valproato: a produção de neurônios gabaérgicos pelas células primitivas cerebrais. O mesmo foi observado com administração de lítio e NT-3 (Knable et al., 2001; Laeng et al., 2004).

O valproato também estimula a proliferação de neurônios progenitores derivados de células corticais primárias, aumenta o número de neurônios e diminui o número de astrócitos gerados através destas, porém sem afetar seu número. Estes achados sugerem que o valproato possa estimular a proliferação de neurônios progenitores derivados de células primárias através do *up-regulation* da ciclina D2. Isto previne o êxito do ciclo celular comandado pelo NT-3, que irá promover a sobrevivência e a diferenciação de neurônios no sistema nervoso (Laeng et al, 2004).

O BDNF tem mostrado ser um alvo para a ação dos antidepressivos e estabilizadores do humor. Tratamentos com antidepressivos, eletroconvulsoterapia, lítio e valproato, podem aumentar os níveis de BDNF em cérebros de ratos (Nibuya et al 1995; Altar et al, 2003).

## 2. Justificativa

Diante do exposto fica evidenciada a gravidade da doença, tanto do ponto de vista do paciente, como para os familiares, médicos e a sociedade. O THB tem um custo muito alto e muito ainda precisa ser feito para melhor compreendermos a doença e construirmos melhores opções terapêuticas.

No que se refere à doença em si, os estudos que estamos desenvolvendo no Laboratório de Psiquiatria Molecular do HCPA vem demonstrando as possibilidades de uma base biológica para o deterioro cognitivo e as possíveis associações com as comorbidades clínicas, tão características neste quadro psiquiátrico. Ou seja, os estudos relacionados às alterações das neurotrofinas, dano ao DNA e estresse oxidativo, que são o nosso foco atualmente.

No entanto, para que os resultados até agora obtidos possam ser mais bem avaliados, torna-se necessário ampliarmos nossa amostra de estudo, além de termos pacientes *drug free*, ou seja que não estejam fazendo uso de medicação há pelo menos duas semanas.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar os níveis de BDNF em pacientes bipolares não medicados e em uso de medicação e comparar ambos os grupos com controles saudáveis.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- a) Estudar as alterações em pacientes em crise maníaca ou depressiva e que não estejam fazendo uso de nenhuma medicação há mais de duas semanas;
- b) Estudar as alterações de BDNF em pacientes em crise maníaca ou depressiva em uso de medicação.
- c) Comparar ambos com controles saudáveis

## Referências Bibliográficas

- Almeida Filho N, Mari JJ, Coutinho E. et al. 1997. Brazilian Multicentric Study of Psychiatry Morbidity. Methodological Features and Prevalence Estimates. *British Journal of Psychiatry*, 171:524-529.
- Altar CA, Whitehead RE, Chen R, Wortwein G, Madsen TM, Effectsof electroconvulsive seizure and antidepressant drugs on brain-derived neurotrophic factor protein in rat brain, *Biol Psychiatry*. 2003;54:7-3-709
- Andreazza AC, Frey BN, Erdtmann B, Salvador M, Rombaldi F, Santin A, Gonçalves CA, Kapczinski F. 2006. DNA damage in bipolar disorder. *Psychiatry Research*, In press.
- Atmaca M, Yildirim H, Ozdemir H, Poyraz AK, Tezcan E, Ogur E. 2006. Hippocampal (1)H MRS in first-episode bipolar I patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 30(7):1235-1239.
- Barde YA. 1994. Neurotrophins: a family of proteins supporting the survival of neurons. *Progress in Clinical and Biological Research* 390: 45-56
- Belmaker RH. 2004. Medical progress: bipolar disorder. *New England Journal of Medicine* 351:476-486.
- Benes F. M., Kwok E. W., Vincent S. L. and Todtenkopf M. S. 1998 A reduction of nonpyramidal cells in sector CA2 of schizophrenics and manic depressives. *Biological Psychiatry* 44:88–97.
- Bertolino A, Frye M, Callicott JH, Mattay VS, Rakow R, Shelton-Repella J, Post R, Weinberger DR. 2003. Neuronal pathology in the hippocampal area of patients with bipolar disorder: a study with proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Biological Psychiatry* 53:906-913.
- Bouras C, Kovari E, Hof PR, Riederer BM, Giannakopoulos P. 2001. Anterior cingulate cortex pathology in schizophrenia and bipolar disorder. *Acta Neuropathologica* 102:373-379.

- Brodski C, Schürch H, Dechan G 2000. Neurotrophin-3 promotes the cholinergic differentiation of sympathetic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 97:9683-9688.
- Castrén E. 2005. Is mood chemistry? *Nature Reviews Neuroscience* 6:241-246.
- Coyle JT, Manji HK. 2002. Getting balance: drugs for bipolar disorder share target. *Nature Medicine* 8:557-558.
- Coyle JT, Duman RS. 2003. Finding the intracellular signaling pathways affected by mood disorder treatments. *Neuron* 38:157-160.
- Craddock N, O'Donovan MC, Owen MJ. 2005. The genetics of schizophrenia and bipolar disorder: dissecting psychosis. *Journal of Medical Genetics* 42:193-204.
- Craddock N, Jones I. 1999. Genetics of bipolar disorder. *Journal of Medical Genetics* 36:585-594.
- Cunha ABM, Frey BN, Andreazza AC, Góí JD, Rosa AR, Gonçalves CA, Santin A, Kapczinski F. 2006. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neuroscience Letters* 398:215-219.
- Deicken RF, Pegues MP, Anzalone S, Feiwell R, Soher B. 2003. Lower concentration of hippocampal N-acetylaspartate in familial bipolar I disorder. *American Journal of Psychiatry* 160:873-882.
- Dennehy EB, Suppes T, Rush AJ, Miller AL, Trivedi MH, Crismon ML, Carmody TJ, Kashner TM. 2005. Does provider adherence to a treatment guideline change clinical outcomes for patients with bipolar disorder? Results from the Texas Medication Algorithm Project. *Psychological Medicine* 35:1695-1706.
- Drevets WC, Manji HK, Duman, RS. 2001. Impairments of neuroplasticity and cellular resilience in severe mood disorders: Implications for the development of novel therapeutics.. *Psychopharmacology Bulletin* 35:5-49.
- Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C. 2000. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biological Psychiatry*, 48(8):732-9.



- Einat H, Yuan P, Gould TD, Li J, Du J, Manji HK, Chen G. 2003. The role of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in mood regulation. *Journal of Neuroscience* 23:7311-7316.
- Felderhoff-Mueser U, Sifringer M, Pesditschek S, Kuckuck H, Moysich A, Bittigau P, Ikonomidou C. 2002. Pathways Leading to Apoptotic Neurodegeneration Following Trauma to the Developing Rat Brain. *Neurobiology of Disease* 11:231-245.
- Frey BN, Andreazza AC, Cereser KM, Martins MR, Valvassori SS, Reus GZ, Quevedo J, Kapczinski F. 2006. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. *Life Sciences*, 79(3), 281-286.
- Friedman E, Hoau-Yan-Wang, Levinson D, Connell TA, Singh H. 1993. Altered platelet protein kinase C activity in bipolar affective disorder, manic episode. *Biological Psychiatry* 33(7):520-5.
- Fukumoto T, Morinobu S, Okamoto Y, Kagaya A, Yamawaki S. 2001. Chronic lithium treatment increases the expression of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain. *Psychopharmacology (Berl)* 158:100-106.
- Gazalle, F.K., Andreazza, A.C., Cereser, K.L., Hallal, P.C., Santin, A., Kapczinski, F., 2005. Clinical impact of late diagnosis of bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders* 86:313-316.
- Gonul AS, Akdeniz F, Taneli F, Donat O, Eker C, Vahip S. 2005. Effect of treatment on serum brain-derived neurotrophic factor levels in depressed patients. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 255(6), 381-386.
- Grant BF, Stinson FS, Hasin DS, Dawson DA, Chou SP, Ruan WJ, Huang B. 2005. Prevalence, correlates, and comorbidity of bipolar I disorder and axis I and II disorders: results from the National Epidemiologic Survey on alcohol and related conditions. *Journal of Clinical Psychiatry* 66:1205-1215.
- Greenwood TA, Schork NJ, Eskin E, Kelsoe JR. 2006. Identification of additional variants within the human dopamine transporter gene provides further

- evidence for an association with bipolar disorder in two independent samples. *Molecular Psychiatry* 11:125-133.
- Hajek T, Carrey N, Alda M. 2005. Neuroanatomical abnormalities as risk factors for bipolar disorder. *Bipolar Disorders* 7:393-403.
- Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. 2004. Critical role of brain-derived neurotrophic factor in mood disorders. *Brain Research Reviews*, 45:104-114.
- Huang EJ and Reichardt LF. 2003. TRK receptors : Roles in Neuronal Signal Transduction. *Annual Review of Biochemistry* 72:609-642.
- Johnston-Wilson NL, Sims CD, Hofmann JP, Anderson L, Shore AD, Torrey EF, Yolken RH. 2000. Disease-specific alterations in frontal cortex brain proteins in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. The Stanley Neuropathology Consortium. *Molecular Psychiatry* 5:142-149.
- Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, Endicott J, Maser J, Solomon DA, Leon AC, Rice JA, Keller MB. 2002. The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Archives of General Psychiatry* 59:530-537.
- Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, Endicott J, Leon AC, Solomon DA, Coryell W, Maser J, Keller MB. 2005. Psychosocial disability in the course of bipolar I and II disorders. *Archives of General Psychiatry* 62:1322-1330.
- Kapczinski F, Frey BN, Kauer-Sant'Anna M, Grassi-Oliveira R, Berk m, 2008. Brain-derived neurotrophic factor and neuroplasticity in bipolar disorder. *Expert Rev Neurother* 8:1101-1113.
- Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G. 2005. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biol Psychiatry* 57:1068-1072.
- Kauer-Sant'Anna M, Tramontina J, Andreazza AC, Cereser K, da Costa S, Santin A, Yatham LN, Kapczinski F. 2007. Traumatic life events in bipolar disorder: impact on BDNF levels and psychopathology. *Bipolar disorders*, 9 Suppl 1:128-35.

- Kelsoe JR. 2003. Arguments for the genetic basis of the bipolar spectrum. *Journal of Affective Disorders*, 73 (1-2): 183-97.
- Kilbourne AM, Cornelius JR, Han X, Pincus HA, Shad M, Salloum I, Congliaro J, Haas GL. 2004. Burden of general medical conditions among individuals with bipolar disorder. *Bipolar Disorder*, 6 (5): 368-73
- Knable MB 1999. Schizophrenia and bipolar disorder: findings from studies of the Stanley Foundation Brain Collection. *Schizophrenie Research*.39:149–152; discussion 163.
- Knable MB, Torrey EF, Webster MJ, Bartko JJ. 2001. Multivariate analysis of prefrontal cortical data from the Stanley Foundation Neuropathology Consortium. *Brain Research Bulletin* 55:651-659.
- Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M, Canatan H, Tezcan AE, Cinkilinc N. 2002. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochemistry and Function*, 20:171-175.
- Laeng P, Pitts RL, Lemire AL, Drabik CE, Weiner A, Tang H, Thyagarajan R, Mallon BS, Altar CA. 2004. The mood stabilizer valproic acid stimulates GABA neurogenesis from rat forebrain stem cells. *Journal of Neurochemistry* 91:238-251.
- Lenox RH, Gould TD, Manji HK. 2002. Endophenotypes in bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics* 114:391-406.
- Lessmann V, Gottmann K, Malcangio M. 2003. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Progress in Neurobiology* 69:341-374
- Leverich GS, Post RM. 2006. Course of bipolar illness after history of childhood trauma. *Lancet*, 367(9516), 1040-1042.
- Lewis MA, Huniha L, Franco D, Robertson B, Palmer J, Laurent DR, Balasubramania BN, Li Y, Westphal R. 2006. Identification and Characterization of Compounds That Potentiate NT-3-Mediated TrK Receptor Activity. *Molecular Pharmacology* 69:1396-1404.
- Lopez AD, Murray CJL. 1998. The global burden of disease, 1990-2020. *Nature Medicine* 4:1241-1243.

- Machado-Vieira R, Lara DR, Portela LV, Gonçalves CA, Soares JC, Kapczinski F, Souza DO. 2002. Elevated serum S100B protein in drug-free bipolar patients during first manic episode: a pilot study. *European Neuropsychopharmacology* 12(3):269-272.
- Malhi GS, Lagopoulos J, Owen AM, Yatham LN. 2004. Bipolaroids: functional imaging in bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 110(Suppl. 422):46-54.
- Manji HK, Drevets WC, Charney DS. 2001. The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine* 7:541-547.
- Monteleone P, Serritella C, Martiadis V, Maj M, 2008. Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in both depressed and euthymic patients with unipolar depression and in euthymic patients with bipolar I and II disorders. *Bipolar Disord* 10:95-100.
- Mortensen PB, Pedersen CB, Melbye M, Mors O, Ewald H. 2003. Individual and familial risks factors for bipolar affective disorders in Denmark. *Archives of General Psychiatry*, 60: 1209-1215.
- Müller-Oerlinghausen B, Berhofer A, Bauer M. 2002. Bipolar disorder. *Lancet* 359:241-247.
- Murakami S, Imbe H, Morikawa Y, Kubo C, & Senba E 2005. Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly. *Neuroscience research*, 53(2), 129-139.
- Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. 2002. Neurobiology of depression. *Neuron* 34:13-25.
- Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. 1995. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *Journal of Neuroscience* 15:7539-7547.
- Nibuya M, Nestler EJ, Duman RS. 1996. Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. *Journal of Neuroscience* 16:2365-2372.

- Öngür D, Drevets WC, Price JL. 1998. Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proceedings of National Academy of Sciences USA* 27:13290-13295.
- Ozcan ME, Gulec M, Ozerol E, Polat R, Akyol O. 2004. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *International Clinical Psychopharmacology* 19:89-95.
- Pantazopoulos H, Stone D, Walsh J, Benes FM. 2004. Differences in the cellular distribution of D1 receptor mRNA in the hippocampus of bipolars and schizophrenics. *Synapse* 54:147-155.
- Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. 1998. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 37:1553-1561.
- Perlis RH, Ostacher MJ, Patel JK, Marangell LB, Zhang H, Wisniewski SR, Ketter TA, Miklowitz DJ, Otto MW, Gyulai L, Reilly-Harrington NA, Sachs GS, Thase ME. 2006. Predictors of recurrence in bipolar disorder: primary outcomes from the systematic treatment enhancement program for bipolar disorder (STEP-BD). *American Journal of Psychiatry* 163:217-224.
- Pearlson GD, Structural and functional brain changes in bipolar disorder: a selective review. *Schizophr Res.* 1999;39:133-140, discussion 162.
- Post RM, Denikoff KD, Leverich GS, Altshuler LL, Frye MA, Suppes TM, Rush AJ, Keck PE Jr, McElroy SL, Luckenbaugh DA, Pollio C, Kupka R, Nolen WA. 2003. Morbidity in 258 bipolar outpatients followed for 1 year with daily prospective ratings on the NIMH life chart method. *Journal of Clinical Psychiatry* 64:680-690.
- Post RM, Ballenger JC, Uhde TW, Smith C, Rubinow DR, Bunney WE Jr. 1982. Effect of carbamazepine on cyclic nucleotides in CSF of patients with affective illness. *Biological Psychiatry* 9:1037-1045.
- Rajkowska G. 2003. Depression: what we can learn from postmortem studies? *Neuroscientist* 9:273-84.

- Rajkowska G, Halaris A, Selemon LD. 2001. Reductions in neuronal and glial density characterize the dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder. *Biological Psychiatry* 49:741-752.
- Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV, Ghate M, Kale A, Sitasawad S, Wagh UV, Debsikdar VB, Mahadik SP. 2003. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Research* 121:109-22.
- Rantamäki T, Knuutila JEA, Hokkanen ME, Castrén E. 2006. The effects of acute and long-term lithium treatments on TrkB neurotrophin receptor activation in the mouse hippocampus and anterior cingulate cortex. *Neuropharmacology* 50:421-427.
- Rosa AR, Frey BN, Andreazza AC, Cereser KM, Cunha AB, Quevedo J, Santin A, Gottfried C, Gonçalves CA, Vieta E, Kapczinski F. 2006. Increased serum glial cell line-derived neurotrophic factor immunocontent during manic and depressive episodes in individuals with bipolar disorder. *Neuroscience Letters* 23:146-150.
- Rosoklija G, Toomayan G, Ellis SP, Keilp A, Mann JJ, Latov N, Hays AP, Dwork AJ. 2000. Structural abnormalities of subiculum dendrites in subjects with schizophrenia and mood disorders: preliminary findings. *Archives of General Psychiatry* 57:349-356.
- Saarelainen T, Hendolin P, Lucas G, Koponen E, Sairanen M, MacDonald E, Agerman K, Haapasalo A, Nawa H, Aloyz R, Ernfors P, Castren E. 2003. Activation of the TrkB Neurotrophin Receptor Is Induced by Antidepressant Drugs and Is Required for Antidepressant-Induced Behavioral Effects. *The Journal of Neuroscience* 23:349–357.
- Shaltiel G, Chen G, Manji HK. 2006. Neurotrophic signaling Cascades in the Pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Current opinion in Pharmacology* 7(1):22-6.

- Shao L, Young LT, Wang JF. 2005. Chronic treatment with mood stabilizers lithium and valproate prevents excitotoxicity by inhibiting oxidative stress in rat cerebral cortical cells. *Biological Psychiatry* 58:879-884.
- Schildkraut JJ. 1965. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *American Journal of Psychiatry* 122:509-522.
- Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, Nakazato M, Watanabe H, Shinoda N, Okada S, Iyo M. 2003. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biological Psychiatry*, 54(1):70-5.
- Schramm A, Schulte JH, Astrahantseff K, Apostolov O, Limpt V van, Sieverts H, Kuhfittig-Kulle S, Pfeiffer P, Versteeg R, Eggert A. 2005. Biological Effects of TrKA and TrKB receptor signaling in neuroblastoma. *Cancer Letters* 228:143-153.
- Schuman EM. Neurotrophin regulation of synaptic transmission. 1999. *Current Opinion in Neurobiology* 9:105-109.
- Strakowski SM, DelBello MP, Adler CM. 2005. The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a review of neuroimaging findings. *Molecular Psychiatry* 10:105-116.
- Takebayashi M, Hisaoka K, Nishida A, Tsuchioka M, Miyoshi I, Kozuru T, Hikasa S, Okamoto Y, Shinno H, Morinobu S. 2006. Decreased levels of whole blood glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in remitted patients with mood disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 9:607-612.
- Takuma K, Baba A, Matsuda T. Astrocyte Apoptosis: implications for neuroprotection. 2004. *Progress In Neurobiology* 72(2):111-127.
- Vogel M, Pfeifer S, Schaub RT, Grabe HJ, Barnow S, Freyberger HJ, Cascorbi I. 2004. Decreased levels of dopamine D3 receptor mRNA in schizophrenic and bipolar patients. *Neuropsychobiology* 50:305-310.
- Wada A, Yokoo H, Yanagita T, Kobayashi H. 2005. Lithium: potential therapeutics against acute brain injuries and chronic neurodegenerative diseases. *Journal of Pharmacological Sciences* 99:307-321.

- Walz JC, Andreazza AC, Frey BN, Cacilhas A, Ceresér KM, Cunha ABM, Weyne F, Stertz L, Santin A, Gonçalves CA, Kapczinski F. 2007. Serum neurotrophin-3 is increased during manic and depressive episodes in bipolar disorder. *Neuroscience Letters*, 415(1):87-9.16.
- Walz R, Lenz G, Roesler R, Vianna MMR, Marins V, Brentani R, Rodnigh R, Izquierdo I. 2000. Time-dependent enhancement of inhibitory avoidance retention and MAPK activation by post-training infusion of nerve growth factor into CA1 region of hippocampus of adult rats. *European Journal of Neuroscience* 12:2185-2189.
- Weissman MM, Bland RC, Canino GJ, Faravelli C, Greenwald S, Hwu HG, Joyce PR, Karam EG, Lee CK, Lellouch J, Lepine JP, Newman SC, Rubio-Stipec M, Wells JE, Wickramaratne PJ, Wittchen H, Yeh EK. 1996. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *Journal of American Medical Association* 276:293-299.
- Williams RS, Cheng L, Mudge AW, Harwood AJ. 2002. A common mechanism of action for three mood-stabilizing drugs. *Nature* 417:292-295.
- Yatham LN, Liddle PF, Shiah IS, Lam RW, Ngan E, Scarrow G, Imperial M, Stoessl J, Sossi V, Ruth TJ. 2002. PET study of [<sup>18</sup>F]6-fluoro-L-dopa uptake in neuroleptic- and mood-stabilizer-naive first-episode nonpsychotic mania: effects of treatment with divalproex sodium. *American Journal of Psychiatry* 159:768-774.
- Yatham LN, Kennedy SH, O'Donovan C, Parikh S, MacQueen G, McIntyre R, Sharma V, Silverstone P, Alda M, Baruch P, Beaulieu S, Daigneault A, Milev R, Young LT, Ravindran A, Schaffer A, Connolly M, Gorman CP. 2005. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) guidelines for the management of patients with bipolar disorder: consensus and controversies. *Bipolar Disorders* 7(Suppl. 3):5-69.
- Zarate CA Jr, Singh J, Manji HK. 2006. Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Biological Psychiatry* 59:1006-1120.



Zuccato C, Cattaneo E. 2007. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. *Progress in Neurobiology*, 81(5-6):294-330.

Artigo publicado no periódico  
*Journal of Psychiatric Research*



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Psychiatric Research

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jpsychires](http://www.elsevier.com/locate/jpsychires)

## Decreased brain-derived neurotrophic factor in medicated and drug-free bipolar patients

Gislaine S. de Oliveira<sup>a,b,c</sup>, Keila Maria Ceresér<sup>a,b,d</sup>, Brisa Fernandes<sup>a,b,d,e</sup>, Marcia Kauer-Sant'Anna<sup>a,b,d,e</sup>, Gabriel Rodrigo Fries<sup>b</sup>, Laura Stertz<sup>b</sup>, Bianca Aguiar<sup>b</sup>, Bianca Pfaffenseller<sup>b</sup>, Flavio Kapczinski<sup>a,b,c,d,e,\*</sup>

<sup>a</sup> Bipolar Disorder Program, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

<sup>b</sup> Molecular Psychiatry Unit, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>c</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>d</sup> INCT for Translational Medicine, Brazil

<sup>e</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina: Psiquiatria, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 20 February 2009

Received in revised form 8 April 2009

Accepted 9 April 2009

Available online xxxxx

#### Keywords:

Bipolar disorder

BDNF

Biological marker

Depression

Mania

Mood stabilizers

### ABSTRACT

Bipolar disorder (BD) has been associated with abnormalities in neuroplasticity and previous studies suggest an important role for BDNF in the pathophysiology of BD. The confounding effect of the use of medication in these studies has been considered a limitation. Thus, studies with both drug-free and medicated patients are necessary to assess the role of medication in serum BDNF levels. Twenty-two manic and depressed drug-free and 22 medicated BD type I patients were matched to 22 controls according to sex and age in a cross-sectional study. BDNF serum levels were assessed using sandwich-ELISA. Serum BDNF levels in drug-free ( $0.23 \pm 0.09$ ), and medicated ( $0.29 \pm 0.19$ ) BD patients were decreased when compared to controls ( $0.40 \pm 0.12$ ) – drug-free/medicated vs. control  $p < 0.001$ . The BDNF levels did not differ between medicated and drug-free BD patients. When analyzing patients according to mood states, serum BDNF levels were lower in BD patients during both manic ( $0.28 \pm 0.11$ ) and depressive episodes ( $0.22 \pm 0.17$ ), as compared with healthy controls ( $0.40 \pm 0.12$ ) – manic/depressed patients vs. controls  $p < 0.001$ . Results suggest that the association of lower serum BDNF and BD mood episodes is kept even in medicated patients, which strengthens the notion that BDNF serum levels may be considered a biomarker of mood episodes in BD.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Bipolar disorder (BD) is a prevalent, highly disabling and chronic illness, characterized by the presence of manic and depressive symptoms (Yatham et al., 2009). Although genetic and familial studies strongly suggest that a neurobiological basis may underlie the pathophysiology of BD, its etiology is still poorly understood. In the last years, BD has been associated with impairments in neuroplasticity and cell survival. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a member of the nerve growth factor family, which is involved in promoting synaptic efficacy, neuronal connectivity and neuroplasticity (Post, 2007). BDNF regulates neuronal development and survival and controls the activity of many neurotransmitters, including the serotonergic, dopaminergic and glutamatergic systems (Cotman and Berchtold, 2002). Studies support the notion that changes in BDNF levels may be involved in the pathophysiology of BD (Kapczinski et al., 2008). There is a growing

body of evidence showing that serum BDNF is decreased during manic and depressive BD episodes (Cunha et al., 2006; Machado-Vieira et al., 2007; Gama et al., 2007; Monteleone et al., 2008; Tramontina et al., 2009).

A question that frequently emerges in studies about serum BDNF levels in BD is the potential bias related to the use of medication. This is considered an important limitation in most of the studies, since BDNF levels can be increased by antidepressants, mood stabilizers and atypical antipsychotics (Chen et al., 2001; Shimizu et al., 2003; Cunha et al., 2006; Sen et al., 2008). Initially in a study with medicated patients, Cunha et al. (2006) were able to show that in manic and depressive patient's serum BDNF levels were lower than in controls. In this same vein, Machado-Vieira et al. (2007) showed that plasma BDNF is decreased in drug-free manic patients. In a recent study, Monteleone et al. (2008) suggested that euthymic patients may present lower levels of BDNF regardless the medication status. However, Monteleone et al. (2008) did not separate major depression disorder (MDD) from BD types I and II in his analysis. Thus, the question whether type I BD patients present lower levels of BDNF during mood episodes regardless the use of medication remained unanswered.

\* Corresponding author. Address: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Av Ramiro Barcelos 2350, 90035-903 Porto Alegre RS, Brazil. Tel.: +55 51 21018845.  
E-mail address: [kapcz@terra.com.br](mailto:kapcz@terra.com.br) (F. Kapczinski).

The aim of this study is to assess whether drug-free patients have differential levels of circulating serum BDNF levels, when compared to medicated BD patients and controls. We hypothesized a priori that serum BDNF levels would be decreased in medicated and in drug-free BD patients as compared to healthy subjects, and that BDNF changes would be more pronounced in drug-free patients than in medicated patients. To this purpose, we assessed serum BDNF concentrations in medicated and drug-free BD type I during manic and depressive episodes.

## 2. Methods

Manic and depressed drug-free and medicated bipolar type I patients were recruited at the Bipolar Disorders Program and Psychiatry Inpatient Unit – Hospital de Clinicas de Porto Alegre, and Pronto Atendimento da Vila Cruzeiro do Sul, Porto Alegre, Brazil. Diagnosis of BD, manic and depressive episodes were established according to Structured Clinical Interview for DSM-IV-Axis I Disorders (SCID-I) (First et al., 1998). Severity of manic and depressive episodes was evaluated using the Young Mania Rating Scale (YMRS) (Young et al., 1978) and Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) (Hamilton, 1960), respectively. To be included in the study, patients should present a manic or depressive episode according to DSM-IV and SCID-I criteria.

Twenty-two drug-free patients were included in this study. Patients did not receive any psychotropic medication for at least two weeks (five weeks if use of fluoxetine or depot medication) before blood withdrawn. The 22 bipolar drug-treated patients and the 22 controls included were matched by age and gender to the drug-free bipolar subjects. Patients who were drug-free and medicated presenting severe or unstable clinical illnesses were excluded by means of a clinical interview. Psychiatric assessment in controls was carried out using SCID-I, non-patient version. Control subjects were recruited in the same hospital, among relatives of patients submitted to minor surgery; controls were not on medication, and had no history of major psychiatric disorders, dementia or mental retardation in their first-degree relatives. The 'Hospital de Clinicas de Porto Alegre' Ethics Committee approved the study and all subjects provided written informed consent before entering the study.

Five milliliters of blood were withdrawn from each subject by venipuncture into a free-anticoagulant vacuum tube. The blood was immediately centrifuged at 4000g for 10 min, and serum was kept frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until assayed. BDNF serum levels were measured with sandwich-ELISA, using a commercial kit according to the manufacturer's instructions (Chemicon, USA). Briefly, microtiter plates (96-well flat-bottom) were coated for 24 h with the samples diluted 1:25 in sample diluents and standard curve ranged from 7.8 to 500 pg of BDNF. Plates were then washed four times with wash buffer, added monoclonal anti-BDNF rabbit antibody (diluted 1:1000 with sample diluents), and incubated for 3 h at room temperature. After washing, a second incubation with anti-rabbit antibody peroxidase conjugated (diluted 1:1000) for 1 h at room temperature was carried out. After addition of streptavidin-enzyme, substrate and stop solution, the amount of BDNF was determined (absorbance set in 450 nm). The standard curve demonstrates a direct relationship between optical density (OD) and BDNF concentration. Total protein was measured by Lowry's method using bovine serum albumin (BSA) as a standard.

Statistical analysis was performed using SPSS 16.0 for Windows. Most of the BDNF values were fitted in a standard distribution curve and were therefore subjected to parametric analyses. All values are presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD), except male gender and presence of psychosis. For the comparisons between the groups, one-way analysis of variance (ANOVA) test with individual differences assessed using a Tukey post-test if the ANOVA

was significant, and independent *t* tests were used. Pearson correlation coefficient was used to analyze the correlation between BDNF and YMRS and HDRS scores. *p*-Values  $< 0.05$  two-tailed were considered statistically significant.

## 3. Results

Patients with BD, and controls, were recruited from January 2007 up to December 2008. The characteristics of drug-free and medicated BD patients and controls are summarized in Table 1. Medicated and drug-free patients and controls were similar in terms of gender and age; medicated and drug-free patients were similar in terms of presence of psychosis, age of first mood episode and length of illness, YMRS score, and HDRS score. Of the 22 medicated patients, 18 (81.82%) were on mood stabilizers, 15 (68.18%) on antipsychotics, and 8 (36.36%) on antidepressants. BDNF levels in serum among drug-free and medicated BD patients were decreased when compared to controls. BDNF levels did not differ between medicated and drug-free BD patients (Table 1, Fig. 1).

When analyzing patients according to mood states, there were no differences between manic ( $n = 24$ ) and depressed ( $n = 20$ ) patients, regarding gender, age, and length of illness (data not shown). As expected, manic patients had significantly higher rates on YMRS than depressed patients ( $32.21 \pm 10.15$  vs.  $3.85 \pm 3.90$ , respectively,  $p < 0.001$ ) and depressed patients had significantly higher rates on HDRS than manic patients ( $21.45 \pm 7.68$  vs.  $6.88 \pm 6.99$ , respectively,  $p < 0.001$ ). In addition, manic patients had significantly more psychotic symptoms (presence of delusions or hallucinations) than depressed BD subjects [20/24 (83.3%) vs. 7/20 (35.0%), respectively,  $p = 0.001$ ]. Serum BDNF levels were lower in BD patients during both manic ( $p < 0.001$ ) and depressive ( $p < 0.001$ ) episodes, as compared with healthy controls ( $0.28 \pm 0.11$ ,  $0.22 \pm 0.17$  and  $0.40 \pm 0.12$ , respectively,  $p < 0.001$  for manic/depressed patients vs. controls) (Fig. 2).

A significant negative correlation between severity of manic symptoms (YMRS scores) and serum BDNF levels was observed in manic medicated and drug-free patients ( $r = -0.45$ ,  $p = 0.002$ ); when analyzing only the manic drug-free patients, the correlation was slightly greater ( $r = -0.56$ ,  $p = 0.001$ ). In the manic medicated group there was a trend towards a correlation ( $r = -0.30$ ,  $p = 0.08$ ). In addition, serum BDNF levels were negatively correlated to depressive symptoms (HDRS scores) in drug-free and drug-treated depressed patients ( $r = -0.33$ ,  $p = 0.036$ ); in the drug-free depressed patients the correlation was again slightly higher ( $r = -0.50$ ,  $p = 0.004$ ); in the drug-treated depressed patients the correlation was not significant ( $r = -0.23$ ,  $p = 0.21$ ).

## 4. Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study assessing serum BDNF levels in drug-free BD patients during manic and depressive episodes as compared to medicated patients. We were able to demonstrate that serum BDNF is decreased in drug-free and drug-treated BD subjects during manic and depressive episodes. Moreover, drug-free and medicated BD patients presented similar level of serum BDNF levels.

In previous studies, our group and others showed that serum BDNF levels were lower in medicated type I BD patients (Cunha et al., 2006); such findings were supported by Machado-Vieira et al. (2007) which showed that plasma BDNF was decreased in drug-free manic patients. In a recent study, Tramontina et al. (2009) showed that serum BDNF levels increase after treatment for acute mania, which provides preliminary evidence that the key factor for restoring BDNF serum levels may not be the medication itself, but rather, clinical response.

**Table 1**  
Characteristics of the drug-free and medicated bipolar patients, and controls.

Characteristics	Group*			p-Value
	Drug-free patients	Medicated patients	Controls	
<i>Male sex – no. (%)</i>				
All patients	5/22 (22.7)	5/22 (22.7)	5/22 (22.7)	1.000 <sup>a</sup>
Manic patients	4/12 (33.3)	4/12 (33.3)	4/12 (33.3)	1.000 <sup>a</sup>
Depressive patients	1/10 (10.0)	1/10 (10.0)	1/10 (10.0)	1.000 <sup>a</sup>
<i>Age – years</i>				
All patients	39.82 ± 12.85 (22)	40.00 ± 8.90 (22)	39.68 ± 10.77 (22)	0.840 <sup>b</sup>
Manic patients	41.83 ± 13.53 (12)	43.83 ± 9.47 (12)	42.84 ± 11.46 (22)	0.679 <sup>b</sup>
Depressive patients	35.00 ± 11.19 (10)	35.40 ± 5.68 (10)	35.24 ± 8.07 (22)	0.930 <sup>b</sup>
<i>Length of illness – years</i>				
All patients	14.06 ± 8.81 (22)	13.87 ± 9.26 (22)	–	0.860 <sup>c</sup>
Manic patients	16.00 ± 8.19 (12)	11.75 ± 9.18 (12)	–	0.290 <sup>c</sup>
Depressive patients	12.12 ± 9.52 (10)	16.00 ± 8.37 (10)	–	0.330 <sup>c</sup>
<i>Presence of psychosis</i>				
All patients	15/22 (68.2)	12/22 (54.6)	–	0.270 <sup>d</sup>
Manic patients	11/12 (91.7)	9/12 (75.0)	–	0.290 <sup>d</sup>
Depressive patients	4/10 (40.0)	3/10 (30.0)	–	1.000 <sup>d</sup>
<i>YMRS score</i>				
Manic patients	31.92 ± 9.71 (12)	32.50 ± 11.00 (12)	–	0.890 <sup>c,d</sup>
Depressive patients	3.00 ± 3.19 (10)	4.70 ± 7.85 (10)	–	0.530 <sup>c,d</sup>
<i>HDRS score</i>				
Manic patients	8.42 ± 7.13 (12)	5.33 ± 6.81 (12)	–	0.290 <sup>c,d</sup>
Depressive patients	23.40 ± 7.53 (10)	19.50 ± 7.71 (10)	–	0.270 <sup>c,d</sup>
<i>BDNF in pg/μL</i>				
All patients	0.23 ± 0.09 (22)	0.29 ± 0.19 (22)	0.40 ± 0.12 (22)	0.001 <sup>b,e</sup>
Manic patients	0.25 ± 0.08 (12)	0.33 ± 0.14 (12)	0.40 ± 0.12 (22)	0.003 <sup>b,e</sup>
Depressive patients	0.21 ± 0.10 (10)	0.24 ± 0.24 (10)	0.40 ± 0.12 (22)	0.003 <sup>b,e</sup>

Abbreviations: YMRS (Young Mania Rating Scale); HDRS (Hamilton Depression Rating Scale); BDNF (brain-derived neurotrophic factor).

\* Columns show mean ± standard deviation (SD) for all categories except male sex and presence of psychosis. The number of participants in each group is shown in parenthesis.

<sup>a</sup> Qui-square test.

<sup>b</sup> One-way ANOVA test with Tukey post-test.

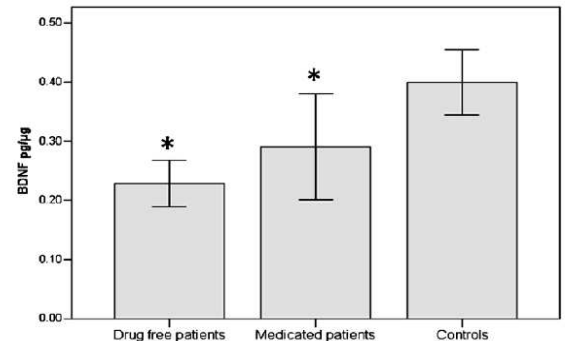
<sup>c</sup> Unpaired t test.

<sup>d</sup> YMRS and HDRS in drug-free patients = medicated patients for the manic and depressive patients.

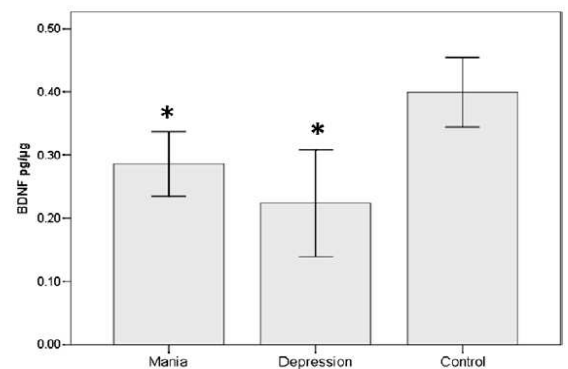
<sup>e</sup> BDNF in controls > drug-free patients/medicated patients for all patients, and for the manic and depressive patients separately.

There are some limitations in this study. Firstly, we measured BDNF levels in serum. Although the specific cellular sources of serum BDNF are still unknown, it has been reported that platelets, vascular endothelial cells and neurons may contribute to the circulating BDNF content. However, it has been demonstrated that BDNF can cross the brain–blood barrier, and there is a high positive correlation between serum and cortical BDNF levels (Karege et al., 2005). Therefore, it has been suggested that the changes of serum BDNF levels may reflect changes in brain BDNF levels (Pan et al., 1998). Secondly, the manic and depressed drug-free patients had slightly lower serum BDNF levels, when compared to drug-treated patients (not statistically significant). Thus, lack of difference between medicated and drug-free BD patients may be a type II error.

In conclusion, the present findings confirm previous studies reporting that serum BDNF levels were decreased in medicated and drug-free BD patients during manic episodes, as compared to



**Fig. 1.** Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in pg/μg in bipolar disorder (BD) patients during manic or depressive episodes, medicated or drug-free as compared to healthy controls. Data are expressed as mean and 95% Confidence Interval (95% CI).  $p < 0.001$  for drug-free/medicated patients vs. control (one-way ANOVA with Tukey post-test).



**Fig. 2.** Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in pg/μg in drug-free and in medicated bipolar disorder (BD) patients during manic or depressive episodes, and in healthy controls. Data are expressed as mean and 95% Confidence Interval (95% CI).  $p < 0.001$  for drug-free/medicated patients vs. control (one-way ANOVA with Tukey post-test).

healthy controls; Moreover, our study showed that serum BDNF levels are decreased in medicated as well as in drug-free depressed and manic patients.

### Contributors

GSO designed the study, wrote the protocol, participated in data acquisition and interpretation, drafting the article and final approval of this version. BF designed the study, was responsible for the analysis and interpretation of data, drafting the article and final approval of this version. LS, GRF, BA, BP participated in study design, data acquisition and final approval of this version. KMC designed the study, wrote the protocol, participated in data acquisition and final approval of this version. FK was responsible for study design and interpretation of data, drafting the article and final approval of this version.

### Role of funding sources

This study was supported by Stanley Medical Research Institute, NARSAD, INCT for Translational Medicine, CNPq, CAPES and

FIPE-HCPA. These agencies had no role in study design, acquisition and interpretation of data or writing the report.

#### Conflict of interest statement

Flavio Kapczinski has received research grants from CNPq, CAPES, SMRI, NARSAD, Lilly, AstraZeneca, and Janssen. Marcia Kauer-Sant'Anna has received research grants from AstraZeneca, FIPE-HCPA, CNPq, CAPES, SMRI, NARSAD, and Lilly. Brisa Fernandes, Gislaíne Oliveira, Keila Cereser, Bianca Aguiar, Bianca Pfaffenseller, Laura Stertz and Gabriel Fries have declared no conflict of interest.

#### Acknowledgement

This study was supported by FIPE-HCPA and CNPq.

#### References

- Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biological Psychiatry* 2001;50(4):260–5.
- Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in Neurosciences* 2002;25(6):295–301.
- Cunha AB, Frey BN, Andreazza AC, Goi JD, Rosa AR, Goncalves CA, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neuroscience Letters* 2006;398(3):215–9.
- First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JB. Structured clinical interview for DSM-IV (SCID-I). New York: 1998.
- Gama CS, Andreazza AC, Kunz M, Berk M, Belmonte-de-Abreu PS, Kapczinski F. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Neuroscience Letters* 2007;420(1):45–8.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 1960;23:56–62.
- Kapczinski F, Frey BN, Kauer-Sant'Anna M, Grassi-Oliveira R, Berk M. Brain-derived neurotrophic factor and neuroplasticity in bipolar disorder. *Expert Review of Neurotherapeutics* 2008;8(7):1101–13.
- Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biological Psychiatry* 2005;57(9):1068–72.
- Machado-Vieira R, Dietrich MO, Leke R, Cereser VH, Zanatto V, Kapczinski F, et al. Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode. *Biological Psychiatry* 2007;61(2):142–4.
- Monteleone P, Serritella C, Martiadis V, Maj M. Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in both depressed and euthymic patients with unipolar depression and in euthymic patients with bipolar I and II disorders. *Bipolar Disorders* 2008;10(1):95–100.
- Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology* 1998;37(12):1553–61.
- Post RM. Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: clinical and theoretical implications. *Journal of Psychiatric Research* 2007;41(12):979–90.
- Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biological Psychiatry* 2008;64(6):527–32.
- Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biological Psychiatry* 2003;54(1):70–5.
- Tramontina J, Andreazza AC, Kauer-Sant'Anna M, Stertz L, Goi J, Chiarani F, et al. Brain-derived neurotrophic factor serum levels before and after treatment for acute mania. *Neuroscience Letters* 2009;452:111–3.
- Yatham L, Kennedy S, Schaffer A, Parikh S, Beaulieu S, O'Donovan C. Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) collaborative update of CANMAT guidelines for the management of patients with bipolar disorder: updated 2009. *Bipolar Disorders* 2009;11:225–55.
- Young RC, Biggs JT, Ziegler VE, Meyer DA. A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science* 1978;133:429–35.

## **Considerações Finais**

Nosso estudo demonstrou que os níveis séricos de BDNF não apresentam diferenças entre pacientes bipolares maníacos e deprimidos com e sem uso de medicação, sendo que ambos apresentam valores diminuídos quando comparados aos controles. Isto sugere que os níveis de BDNF circulantes não são afetados pelo uso dos estabilizadores do humor e antipsicóticos, ou que esta diferença não seja tão relevante como anteriormente hipotetizado.

Até onde temos ciência, este é o primeiro estudo que avaliou níveis séricos do BDNF em pacientes bipolares não medicados durante episódios maníacos e depressivos, comparados com pacientes medicados. Nós demonstramos que os níveis de BDNF estão diminuídos em sujeitos bipolares medicados e não medicados durante episódio maníaco e depressivo. Além disso, os pacientes bipolares não medicados e medicados tiveram níveis similares de BDNF no soro.

Em um estudo com pacientes com depressão maior (DM) e bipolares eufímicos tipos I e II, Monteleone et al (2008), descrevem não haver diferenças significativas no nível sérico do BDNF entre pacientes medicados e não medicados. Neste estudo, eles não discriminaram os resultados entre deprimidos e bipolares. Isto está de acordo com nossos resultados, onde diferenças entre pacientes medicados e não medicados não foram encontradas.

Há algumas limitações no presente estudo. Primeiramente, nós medimos níveis de BDNF no soro. Embora as fontes celulares específicas do BDNF sérico sejam ainda desconhecidas, relatou-se que as plaquetas, as células endoteliais vasculares e os neurônios podem contribuir para a circulação de BDNF (Karage et al, 2005). Entretanto, tem sido demonstrado que o BDNF pode cruzar a barreira hemato-encefálica, e há uma elevada correlação positiva entre os níveis de BDNF cortical e sérico. Conseqüentemente, sugeriu-se que as mudanças nos níveis séricos do BDNF possam em parte refletir as mudanças dos níveis do BDNF no cérebro (Pan et al, 1998). Em segundo lugar, o presente estudo possui delineamento do tipo transversal; sendo assim, não podemos descartar a possibilidade de um aumento nos níveis séricos de BDNF após o tratamento, apesar do paciente ainda se encontrar em episódio de humor. Terceiro, os pacientes maníacos e deprimidos não medicados tiveram níveis ligeiramente mais baixos de BDNF, quando comparados aos pacientes medicados (não estatisticamente significativos). Assim, pode ter ocorrido um erro tipo II devido à falta do poder em nossa amostra relativamente pequena.

Concluindo, estes achados confirmam os estudos anteriores, que relatam que os níveis séricos de BDNF estão diminuídos em pacientes bipolares medicados e não medicados durante episódios maníacos, em comparação aos controles saudáveis. Além disso, nosso estudo demonstra que os níveis séricos de BDNF estão diminuídos em pacientes medicados durante episódios maníacos e depressivos, bem como em pacientes bipolares deprimidos não medicados, e que



os níveis séricos de BDNF não diferiram em sujeitos bipolares com e sem uso de estabilizadores do humor e antipsicóticos.