

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: BIOQUÍMICA

GABRIEL HENRIQUE HIZO

**POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DO CANABIDIOL NO
TRATAMENTO DO TRANSTORNO BIPOLAR**

Porto Alegre, fevereiro de 2022.

GABRIEL HENRIQUE HIZO

**POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DO CANABIDIOL NO
TRATAMENTO DO TRANSTORNO BIPOLAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

Orientadora: Dra. Márcia Kauer Sant'Anna

Porto Alegre, Março de 2022.

CIP - Catalogação na Publicação

Hizo, Gabriel Henrique
Potencial Anti-inflamatório e Antioxidante do
Canabidiol no Tratamento do Transtorno Bipolar /
Gabriel Henrique Hizo. -- 2022.
55 f.
Orientadora: Márcia Kauer Sant'Anna.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:
Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Transtorno Bipolar. 2. Canabidiol. 3. Inflamação. 4.
Estresse Oxidativo. 5. Sistema Endocanabinoide. I.
Sant'Anna, Márcia Kauer, orient.
II. Título.

GABRIEL HENRIQUE HIZO

**POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DO CANABIDIOL NO
TRATAMENTO DO TRANSTORNO BIPOLAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dra. Adriana Ribeiro Rosa
(Membro externo – PPGFT/UFRGS)

Prof. Dra. Clarissa Severino Gama
(Membro interno – PPGBIOQ/UFRGS)

Profa. Dra. Márcia Kauer Sant'Anna
(Orientadora – PPGBIOQ/UFRGS)

Porto Alegre, Março de 2022

AGRADECIMENTOS

À prof^a Márcia Kauer Sant'Anna, minha orientadora, por ter aceitado essa missão e, especialmente, pelo ensinamento e direcionamento nessa etapa tão importante da minha formação profissional.

Aos meus amigos do Laboratório de Psiquiatria Molecular e colegas de bancada: Ellen, Mailton, Fernanda, Bárbara, Jeferson, Giovana Dalpiaz, Jacson, Rafa, Gabriela Possebon, Letícia, Cássio, Diego. Muito obrigado pelo conhecimento trocado, pelos experimentos realizados juntos, e por todos os momentos que compartilhamos. Definitivamente não se faz ciência sozinho, e vocês foram peças fundamentais na minha formação.

Meu agradecimento, mais que especial, à Giovana Bristot – que caminhou comigo desde o TCC até o Mestrado, em absolutamente todas as etapas. Tu és um exemplo de pessoa e de cientista para mim. Ao Jairo Vinícius, pelo importante direcionamento. Muito obrigado pelo conhecimento que compartilhaste, pelas dicas e orientações – que certamente foram fundamentais nesse trabalho. À Paola Ziani pela revisão do trabalho, apoio em todo o período e o imenso carinho.

Aos meus amigos e familiares pelo apoio e incentivo.

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação de mestrado está organizada em três partes conforme a seguir:

Parte I: Resumo, *Abstract*, Introdução e Objetivos

Parte II: Resultados apresentados na forma de artigo científico

Parte III: Discussão, Conclusões e Perspectivas.

Ainda estão presentes as Referências e os Anexos:

- a) Cartas de aprovação do projeto pela Comissão de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA);
- b) Instruções para a submissão de manuscritos na revista *Bipolar Disorders*.

PARTE I

RESUMO

O transtorno bipolar (TB) é uma doença psiquiátrica cuja característica mais marcante é a alternância nos estados de humor, variando entre episódios depressivos e maníacos. Trata-se de uma doença bastante complexa que apresenta em sua fisiopatologia aspectos genéticos, neuroanatômicos, bioquímicos e inflamatórios. Diversas vias biológicas vêm ganhando destaque, especialmente as que envolvem inflamação e resposta ao estresse oxidativo. Nesse sentido, o canabidiol (CBD) tem sido estudado como um potencial fármaco no tratamento do TB, sobretudo agindo em dois fatores nucleares muito importantes: fator nuclear kappa B (NF- κ B) e fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), sendo o primeiro mais relacionado com o sistema inflamatório, e o segundo com a resposta do organismo ao estresse oxidativo. Dessa forma, este estudo teve como objetivo a investigação do potencial anti-inflamatório e antioxidante do CBD no TB. Isso foi possível através da avaliação da expressão de genes relacionados a esse processo, dentre eles NF- κ B e Nrf2, além de outros relacionados ao sistema endocanabinoide, como as enzimas lipase monoacilglicerol (MGLL) e amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH). Comparou-se a expressão gênica de indivíduos saudáveis e pacientes com TB e identificou-se um perfil inflamatório nos pacientes, representado pelo aumento na expressão dos genes NF- κ B e Nrf2. No entanto, diferente do esperado, após o protocolo de tratamento que teve duração de 8 semanas, nossos dados indicaram que o CBD não foi capaz de reduzir esses níveis. Isso aconteceu provavelmente pela dificuldade da técnica e do baixo número amostral que o grupo de pesquisa obteve. Apesar dessas limitações, observou-se uma correlação positiva significativa entre a escala de avaliação de depressão de Montgomery-Asberg (MADRS) e os níveis de MGLL, reforçando a hipótese de que há envolvimento entre o sistema endocanabinoide e a fisiopatologia do TB.

ABSTRACT

Bipolar disorder (BD) is a psychiatric illness whose most striking feature is the alternation in mood states, ranging from depressive and manic episodes. It is a very complex disease that presents in its pathophysiology genetic, neuroanatomical, biochemical, and inflammatory aspects. Several biological pathways have been gaining prominence, especially those involving inflammation and the response to oxidative stress. In this sense, cannabidiol (CBD) has been studied as a potential drug in the treatment of BD, especially acting on two very important nuclear factors: nuclear factor kappa B (NF- κ B) and erythroid nuclear factor 2 related to factor 2 (Nrf2), the first being more related to the inflammatory system, and the second to the body's response to oxidative stress. Thus, this study aimed to investigate the anti-inflammatory and antioxidant potential of CBD in BD. This was possible by evaluating the expression of genes related to this process, including NF- κ B and Nrf2, as well as others related to the endocannabinoid system, such as the enzymes monoacylglycerol lipase (MGLL) and fatty acid amide hydrolase (FAAH). The gene expression of healthy individuals and TB patients was compared and an inflammatory profile was identified in the patients, represented by the increase in the expression of the NF- κ B and Nrf2 genes. However, different from what was expected, after the treatment protocol that lasted 8 weeks, our data indicated that CBD was not able to reduce these levels. This was probably due to the difficulty of the technique and the low sample size that the research group obtained. Despite these limitations, a significant positive correlation was observed between the Montgomery-Asberg Depression Rating Scale (MADRS) and MGLL levels, reinforcing the hypothesis that there is involvement between the endocannabinoid system and the pathophysiology of BD.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidônico
AEA	Anandamida (do inglês, <i>N-arachidonylethanolamine</i>)
AMPc	Monofosfato Cíclico de Adenosina (do inglês, <i>Adenosine Monophosphate Cyclic</i>)
ARE	Elemento de Resposta Antioxidante (do inglês, <i>Antioxidant Response Element</i>)
ATP	Trifosfato de Adenosina (do inglês, <i>Adenosine Triphosphate</i>)
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês, <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>)
CAT	Catalase
CBD	Canabidiol (do inglês, <i>Cannabidiol</i>)
CB1	Receptor Canabinoide tipo 1 (do inglês, <i>Cannabinoid receptor type 1</i>)
CB2	Receptor Canabinoide tipo 2 (do inglês, <i>Cannabinoid receptor type 2</i>)
CCL11	Quimiocina com Motivo C-C 11 (do inglês, <i>C-C Motif Chemokine Ligand 11</i>)
CCL24	Quimiocina com Motivo C-C 24 (do inglês, <i>C-C Motif Chemokine Ligand 24</i>)
CO	Monóxido de Carbono (do inglês, <i>Carbon Monoxide</i>)
COX-2	Ciclo-Oxigenase 2
CPF	Córtex Pré-Frontal
CXCL8	Ligante 8 de Quimiocina com Motivo C-X-C (do inglês, <i>C-X-C Motif Chemokine Ligand 8</i>)
CXCL10	Ligante 10 de Quimiocina com Motivo C-X-C (do inglês, <i>C-X-C Motif Chemokine Ligand 10</i>)
DAT	Transportador de Dopamina (do inglês, <i>Dopamine Transporter</i>)
DM	Depressão Maior
DMPFC	Córtex Pré-Frontal Dorsomedial (do inglês, <i>Dorsomedial Prefrontal Cortex</i>)
DNA	Ácido Desoxirribonucleico (do inglês, <i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
DSM-V	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5 (do inglês, <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fifth edition</i>)
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
FABP	Proteínas de Ligação a Ácidos Graxos (do inglês, <i>Fatty Acid-Binding Protein</i>)
FAAH	Hidrolase Amida de Ácido Graxo (do inglês, <i>Fatty Acid Amide Hydrolase</i>)
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico (do inglês, <i>Gamma-Aminobutyric Acid</i>)

GB	Gânglios da Base
GCL	Glutamato-Cisteína Ligase (do inglês, <i>Glutamate Cysteine Ligase</i>)
Glx	Glutamina-glutamato (do inglês, <i>Glutamine-glutamate</i>)
Gpx	Glutationa Peroxidase
GSH-Px	Glutationa Peroxidase (do inglês, <i>Gluthatione Peroxidase</i>)
GST	Glutationa-S-Transferase
GWAS	Estudos de Associação Genômica Global (do inglês, <i>Genome-Wide Association Study</i>)
HO-1	Heme-Oxigenase 1
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
IFN- γ	Interferon Gama
iKC	complexo inibidor kappa B quinase
iNOS	Óxido Nítrico-Sintase Induzida (do inglês, <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>)
IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12	Interleucina 1, Interleucina 2, Interleucina 4, Interleucina 6, Interleucina 8, Interleucina 10, Interleucina 12
IRAK-1	Quinase 1 Associada ao Receptor da Interleucina 1 (do inglês, <i>Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 1</i>)
JAK	Quinases Janus (do inglês, <i>Janus Kinase</i>)
Keap1	Proteína 1 Associada à ECH do tipo Kelch (do inglês, <i>Kelch-Like ECH-Associated Protein 1</i>)
LPS	Lipopolissacarídeo
MADRS	Escala Montgomery-Asberg Depression Rating Scale
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno (do inglês, <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>)
MGLL	Lipase de Monoacilglicerol (do inglês, <i>Monoacylglycerol Lipase</i>)
MKP-1	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno (do inglês, <i>Mitogen-Activated Protein Kinase 1</i>)
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
mTOR	Rapamicina
NAPE	N-Acil Fosfatidiletanolamina (do inglês, <i>N-Acyl Phosphatidylethanolamine</i>)
NAPE-PLD	N-Acil Fosfatidiletanolamina Fosfolipase D (do inglês, <i>N-Acyl Phosphatidylethanolamine Phospholipase D</i>)

NF-κB	Fator Nuclear Kappa B (do inglês, <i>Nuclear Factor Kappa B</i>)
NF-κBp65	Subunidade p65 de NF-κB
NO	Óxido Nítrico (do inglês, <i>Nitric Oxide</i>)
Nrf2	Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (do inglês, <i>Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2</i>)
PGs-EA	Prostaglandina-Etanolamidas (do inglês, <i>Prostaglandin-Ethanolamides</i>)
PPAR-γ	Receptor Ativado por Proliferadores de Peroissoma Gama (do inglês, <i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma</i>)
RNA	Ácido Ribonucleico (do inglês, <i>Ribonucleid Acid</i>)
sMaf	Proteína Pequena Maf (do inglês, <i>Small Maf</i>)
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SOD	Superóxido Dismutase
STAT1	Transdutor de Sinal e Ativador da Transcrição 1 (do inglês, <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 1</i>)
STAT3	Transdutor de Sinal e Ativador da Transcrição 3 (do inglês, <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i>)
TB	Transtorno Bipolar
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (do inglês, <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>)
TDAH	Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade
THC	Tetra-Hidrocanabinol
TH1	Linfócito T Auxiliar 1 (do inglês, <i>Lymphocyte T Helper 1</i>)
TH2	Linfócito T Auxiliar 2 (do inglês, <i>Lymphocyte T Helper 2</i>)
TLR4	Receptor do Tipo Toll 4 (do inglês, <i>Toll-Like Receptor 4</i>)
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa (do inglês, <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>)
TRPV1	Receptor de Potencial Transitório Vaniloide Tipo 1 (do inglês, <i>Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V member 1</i>)
TrxR	Tiorredoxina Redutase (do inglês, <i>Thioredoxin Reductase</i>)
XO	Xantina Oxidase
Zn-SOD	Zinco Superoxido Dismutase (do inglês, <i>Zinc Superoxide Dismutase</i>)
2-AG	2-Araquidoniglierol (do inglês, <i>2-Arachidonoylglycerol</i>)
Δ ⁹ -THC	Δ ⁹ -Tetra-Hidrocanabinol

ÍNDICE

1 Introdução.....	14
1.1 Transtorno bipolar	14
1.1.1 Definição e características gerais	14
1.1.2 Fisiopatologia do TB	16
1.1.2.1 Aspectos gerais	16
1.1.2.2 Alterações neuroanatômicas	18
1.1.2.3 Alterações genéticas	19
1.1.2.4 Estresse oxidativo e inflamação: Nrf2 e NF- κ B	20
1.2 Sistema endocanabinoide	24
1.2.1 Aspectos gerais	24
1.2.2 Principais receptores endocanabinoides: CB1 e CB2	25
1.2.3 Principais endocanabinoides: AEA e 2-AG	26
1.2.4 Principais enzimas de hidrólise dos endocanabinoides: FAAH e MGLL.....	28
1.2.5 Sistema endocanabinóide e os fatores nucleares NF- κ B e Nrf2	28
1.3 Canabidiol.....	30
1.3.1 Histórico e Estrutura	30
1.3.2 Potencial terapêutico do CBD nos transtornos psiquiátricos.....	31
1.3.3 Potencial antioxidante e anti-inflamatório do CBD	32
1.4 Justificativa.....	34
2. Objetivos.....	34
2.1 Objetivo geral	34
2.2 Objetivos específicos	35
PARTE II.....	36
3. Resultados.....	37
Title: Potential Antioxidative and Anti-Inflammatory Effects of Cannabidiol in Bipolar Disorders	38

PARTE III	56
4. Discussão	57
5 Conclusões e Perspectivas	60
6 Referências	62
Anexo A – Cartas de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	78
Anexo B – Instruções para a submissão de manuscritos na revista <i>Bipolar Disorders</i>	89

1 Introdução

1.1 Transtorno bipolar

1.1.1 Definição e características gerais

O Transtorno Bipolar (TB) é uma doença crônica que afeta mais de 1% da população mundial (Scaini et al., 2020; Vieta et al., 2018), e é caracterizada por oscilações no humor, alternando entre episódios de mania e de depressão. Embora apresente episódios maníacos, no TB há a predominância de episódios depressivos (Novis et al., 2014). Uma ilustração que facilita o entendimento disso seria a de que os episódios maníacos são como ilhas rodeadas por mares de depressão. O Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5 (DSM-V) classifica o TB como TB tipo I, TB tipo II e Transtorno Ciclotímico. O TB tipo I é uma desordem maníaco-depressiva, com a presença ou ausência de episódios psicóticos. O TB tipo II é um tipo de TB onde requer um ou mais episódios depressivos e pelo menos um episódio hipomaníaco. Os sintomas de mania são caracterizados por aumento de energia e consequente redução na necessidade de sono, impulsividade, sensação de euforia, sentimentos de grandeza, aumento na atividade sexual, irritabilidade, agressão e comportamentos imprudentes (Hilty et al., 2006). Já em relação aos sintomas dos episódios depressivos, observa-se humor deprimido, desprazer acentuado nas atividades, perda ou ganho de peso, insônia, retardo psicomotor e ideação suicida (Scaini et al., 2020). Gonda et al. (2012) mostra que a ideação suicida é um aspecto bastante preocupante no TB, pois cerca de 14 a 59% dos indivíduos com TB apresentam essa pensamentos de suicídio, e 20% desses cometem, de fato, o suicídio (Gonda et al., 2012).

O TB leva a consequências psicossociais significativas para o indivíduo, uma vez que alteram os relacionamentos interpessoais no ambiente familiar e profissional (Michalak et al., 2008; Namjoshi and Buesching, 2001). Um estudo mostrou que pacientes bipolares são significativamente mais propensos a apresentar declínio no trabalho e na renda e em quase todas as áreas do funcionamento psicossocial (Coryell et al., 1993). Além do impacto para o indivíduo em si, os familiares também são bastante afetados, frequentando a mais consultas médicas ambulatoriais, necessitando às vezes de internações hospitalares e medicações prescritas. Esse dado reforça o impacto do TB não somente no indivíduo, mas também na família, sobretudo nos quesitos financeiros, de saúde e bem-estar (Chatterton et al., 2007).

Comorbidades como doença cardiovascular (Parker, 2010; Wageck et al., 2017), diabetes (Calkin et al., 2013) e obesidade (Tully et al., 2018) estão fortemente associadas ao TB. Além disso, doenças psiquiátricas e transtorno de uso de substância (abuso de substâncias) também estão bastante envolvidas com o TB (Carrà et al., 2014; Grande et al., 2016). Diversos transtornos psiquiátricos podem ocorrer concomitantemente com o transtorno bipolar, tais como transtorno de ansiedade, principalmente na adolescência, e transtornos depressivos, com preponderância no início da idade adulta (Johnson et al., 2000).

Alguns fatores epidemiológicos têm grande importância no estudo do TB. Em relação ao gênero, há prevalência similar entre os sexos masculino e feminino (Schaffer et al., 2006). Diferente da Depressão Maior (DM), que é duas vezes mais comum em mulheres do que em homens, no TB a taxa de doença relatada em homens e mulheres é aproximadamente igual (Diflorio and Jones, 2010). No quesito idade, observa-se maior prevalência em adolescentes na faixa de 13-14 e 17-18 anos de idade, e em adultos na faixa de 18-29 anos de idade (Merikangas et al., 2010). O TB é mais prevalente em indivíduos separados, divorciados ou viúvos (Dell'Aglio Jr. et al., 2013; Merikangas and Pato, 2009; Walid and Zaytseva, 2011). Não há um consenso a respeito da associação entre TB e o nível socioeconômico: estudos epidemiológicos atuais relatam uma distribuição semelhante entre as classes sociais, não havendo diferença entre população socioeconomicamente desfavorecida e a favorecida (Eid et al., 2013). Por fim, outro fator importante no TB diz respeito à idade de início da doença ou do aparecimento dos sintomas. O início precoce do TB aumenta a chance de um curso grave da doença, com aumento no risco de ideação suicida e abuso de substâncias (Bauer and Pfennig, 2005).

O tratamento farmacológico do TB tem sido alvo de estudo há algum tempo, onde se leva em conta a fase do transtorno: mania ou depressão. Em relação ao tratamento da mania, sugere-se iniciar com uso de carbonato de lítio, que permanece sendo, mesmo com o passar dos anos, o tratamento ouro (Balon, 2009; Tondo et al., 2019). Além disso, o lítio pode também vir associado a algum antipsicótico de primeira geração, como a clorpromazina (Modak et al., 2017). Em muitos casos, os antipsicóticos apresentam efeitos antimaníacos mais rápidos que o lítio. Por isso, diversos novos antipsicóticos têm surgido – os chamados antipsicóticos de segunda geração. Os mais conhecidos são aripiprazol, olanzapina, paliperidona, risperidona e quetiapina (Miller et al., 2015). Com o passar dos anos também se começou a utilizar algumas drogas anticonvulsivantes – como divalproato de sódio (valproato) e carbamazepina – no tratamento de episódios maníacos do TB, embora

apresentem menor eficácia do que olanzapina em adultos e risperidona em populações pediátricas e adolescentes (Jochim et al., 2019).

Ainda que os episódios maníacos comprometam bastante a saúde dos pacientes com TB, a depressão bipolar merece especial atenção, uma vez que está associada ao elevado risco de suicídio (Pompili, 2008). O alerta para a depressão bipolar se dá, sobretudo, por causa da forte resistência ao tratamento, e, portanto, poucos fármacos conseguem efetivamente reduzir os episódios (Baldessarini et al., 2020). A literatura e os casos clínicos têm apontado para os poucos e inconsistentes resultados em relação ao uso de antidepressivos para o tratamento da depressão bipolar (Gitlin, 2016). Além disso, existe o risco de virada maníaca – que é o termo utilizado para a passagem brusca do estado depressivo para o maníaco – e essa mudança de episódios de humor pode estar associada com o uso errôneo de antidepressivos para o tratamento da depressão bipolar (Baldessarini et al., 2013). Nas últimas décadas, anticonvulsivantes – como divalproato de sódio e lamotrigina – e lítio tem sido a escolha para o tratamento da depressão bipolar, com destaque para a lamotrigina, que em alguns ensaios clínicos tem sido utilizado como monoterapia (Baldessarini et al., 2019).

1.1.2 Fisiopatologia do TB

1.1.2.1 Aspectos gerais

A fisiopatologia do TB, assim como as demais doenças neuropsiquiátricas, é bastante complexa, envolvendo diversos caminhos fisiológicos, desde o sistema de neurotransmissão, neurotrofinas, fatores genéticos até inflamação e estresse oxidativo (Kapczinski and Quevedo, 2015). Os níveis de noradrenalina e seus metabólitos estão aumentados no TB quando comparados com a depressão unipolar. Além disso, outro dado importante aponta que os pacientes bipolares maníacos apresentam maiores níveis de noradrenalina do que os pacientes bipolares deprimidos (Manji et al., 2003). Por outro lado, os níveis de serotonina estão reduzidos em pacientes bipolares, tanto maníacos quanto depressivos, quando comparados com indivíduos saudáveis (Lee et al., 2012). Um estudo inclusive sugere que os níveis de serotonina poderiam ser avaliados como biomarcadores para pacientes bipolares (Mahmood and Silverstone, 2001). O sistema dopaminérgico também parece estar alterado no TB: aumento na neurotransmissão dopaminérgica durante a mania devido ao aumento da disponibilidade do receptor D2/3 estriatal; e redução dopaminérgica na depressão bipolar

devido ao aumento nos níveis de transportador de dopamina (DAT) estriatal (Ashok et al., 2017). Apesar dos dados bibliográficos serem conflitantes, uma recente meta-análise mostrou um aumento de Glx – que representa a soma de glutamina e glutamato – em pacientes bipolares quando comparados com indivíduos saudáveis (Gigante et al., 2012). Essa alteração nos níveis de glutamato pode estar associada a alterações mitocondriais (Young, 2007). Vale ressaltar ainda a importante hipótese do equilíbrio catecolaminérgico-colinérgico, onde o aumento do funcionamento colinérgico está associado com o estado depressivo, enquanto que o aumento da ativação das catecolaminas está associado ao estado maníaco (van Enkhuizen et al., 2015). Essas alterações, somadas, contribuem para o desenvolvimento da fisiopatologia do TB.

Outro aspecto importante diz respeito à alteração dos níveis do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (Fernandes et al., 2015). Esse fator ou proteína está intimamente ligado ao processo de neurogênese, plasticidade sináptica, sistema imunológico, metabolismo de lipídio, diferenciação e sobrevivência celular (Bathina and Das, 2015; Yang et al., 2020). Em consequência disso, alterações nos níveis de BDNF estão associados com diversos danos neuronais – muito frequentes, sobretudo, nas doenças psiquiátricas (Autry and Monteggia, 2012). Se por um lado o Sistema Nervoso Central (SNC) é atingido pelas alterações nos níveis de BDNF, mudanças comportamentais e déficits cognitivos também são percebidos, uma vez que há uma correlação positiva entre esses fatores (Zhen et al., 2018). Os níveis séricos de BDNF estão reduzidos nos pacientes bipolares – tanto em episódios maníacos quanto depressivos – quando comparados com pacientes com depressão unipolar e indivíduos saudáveis. E ainda há uma correlação positiva entre essa redução nos níveis de BDNF e a gravidade dos sintomas maníacos e depressivos (Grande et al., 2010).

Outro ponto importante diz respeito aos diversos estudos que têm identificado uma disfunção mitocondrial no TB e observado qual é a relação dessa disfunção com o funcionamento cognitivo e comportamental dos pacientes (Clay et al., 2011; Young, 2007). Alterações morfológicas – como mudanças no tamanho – bem como funcionais – como diminuição do funcionamento da cadeia transportadora de elétrons – estão associados ao aumento do estresse oxidativo e consequente ao dano a proteínas e ao ácido desoxirribonucleico (DNA). Esse mau funcionamento mitocondrial em áreas cerebrais como córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo pode estar associado com uma redução significativa da neuroplasticidade, e consequentemente influenciar negativamente a cognição e o humor dos pacientes com TB (Minuzzi et al., 2011).

Outros estudos têm apontado para a hiperativação do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) na fisiopatologia do TB (Giurgiuca, 2017). Em razão disso, há uma elevada liberação de cortisol nos três estados da doença: eutímico, maníaco e depressivo (Fries et al., 2015). Níveis elevados de cortisol, sobretudo cronicamente, podem ocasionar danos em regiões muito importantes do SNC – como hipocampo – e contribuir para um comprometimento cognitivo no processamento de emoções (Sroykham and Wongsawat, 2019).

1.1.2.2 Alterações neuroanatômicas

Uma revisão bibliográfica recente elencou de forma organizada alguma das alterações neuroanatômicas mais significativamente percebidas e estabelecidas em pacientes bipolares na literatura. Através de técnicas de imagem como tomografia computadorizada, imagem de ressonância magnética, entre outras, foi possível observar (1) aumento significativo nos ventrículos cerebrais, sobretudo o terceiro ventrículo; (2) redução do cerebelo; (3) redução da espessura cortical bilateral, principalmente nas regiões frontal, temporal e parietal; e ainda, que essa redução da espessura cortical é mais profundamente percebida em pacientes com maior tempo de doença, enquanto que pacientes tratados com lítio, de certa forma, não apresentaram elevada redução na espessura; (4) redução da amígdala e hipocampo e aumento do estriado (Scaini et al., 2020). Outras alterações percebidas no cérebro de pacientes com TB são os volumes pré-frontais reduzidos, quando comparados com indivíduos saudáveis. Essa redução também é inversamente correlacionada com o desempenho cognitivo dos pacientes (Sax et al., 1999). O que outros estudos observaram e sugeriram é que regiões pré-frontais “cognitivas” são menos ativadas enquanto áreas pré-frontais “límbicas”, como cíngulo anterior, são mais ativadas. Isso explica em parte os diferentes estados de humor da doença, por exemplo (Blumberg et al., 2000).

1.1.2.3 Alterações genéticas

Como já foi visto, o TB é uma doença complexa e multifatorial, onde a sua etiologia, embora desconhecida, perpassa por três fatores principais: neuroquímicos, ambientais e genéticos (Rowland and Marwaha, 2018; Scaini et al., 2020). As evidências mostram uma alta relevância do fator genético, onde a taxa de herdabilidade da doença em estudos com gêmeos é de até 70 a 80% (Edvardsen et al., 2008; McGuffin et al., 2003). Além da grande chance de herdabilidade de genes associados à doença dos pais para os filhos, também se observou que isso está associado ao início precoce da doença nos filhos (Vandeleur et al., 2012). Os principais genes com poliformismos relacionados ao TB foram identificados a partir de estudos de associação genômica global (GWAS) (Tabela 1). Trata-se de genes relacionados, principalmente, a atividades neuronais, inflamatórias e comportamentais (Kapczinski and Quevedo, 2015). Um exemplo disso são os achados onde os níveis de interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) estão aumentados durante os episódios depressivos do TB, corroborando para o entendimento da relação genética com a fisiopatologia da doença (Kunz et al., 2011). Vale levar em consideração também os mecanismos epigenéticos – que representam a interação entre gene e ambiente – e que dessa forma tem os níveis de expressão e de atividade desses genes sendo modulados (Duffy et al., 2019). Os principais mecanismos são a metilação do DNA, modificações de histonas, remodelação da cromatina e ações de ácidos ribonucleicos (RNA) não codificantes (Scaini et al., 2020).

Tabela 1. Principais genes com polimorfismos relacionados ao TB.

População	Casos	Controles	Genes
Mista	4387	6209	CACNA1C, ANK3
Mista	7481 e 4496	9250 e 42422	CACNA1C, ODZ4
Germânica	6030	31749	NCAN
Metanálise	6558 e 484	8187 e 1823	TRANK1
Mista	9747	14278	ANK3, ODZ4, TRANK1, ADCY2

Fonte: Adaptada de Kapczinski & Quevedo, Capítulo 4, 2ª edição.

1.1.2.4 Estresse oxidativo e inflamação: Nrf2 e NF- κ B

As Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) são produzidas no metabolismo normal das células. As mais conhecidas são superóxido e peróxido de hidrogênio, e são formadas, principalmente, dentro das mitocôndrias (Lambert and Brand, 2009). As EROs têm o potencial de danificar células, DNA e proteínas, culminando em perda de função e até envelhecimento (Shields et al., 2021). Ainda, o dano ao DNA causado pelas EROs pode dar origem a mutações em genes supressores de tumor – conhecido como oncogenes (Cejas et al., 2007). Para proteger o organismo contra as EROs, as células possuem defesas antioxidantes, que podem ser enzimáticas – onde as mais conhecidas são Superóxido Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (Gpx) e catalase (CAT) – e não enzimáticas – como exemplo temos a glutathione, vitamina C, ácido lipóico e flavanóides, entre outros (Birben et al., 2012). Todavia, quando há um distúrbio no equilíbrio entre a produção de EROs e as defesas antioxidantes, acontece o fenômeno do estresse oxidativo (Betteridge, 2000). O estresse oxidativo tem influenciado na progressão de doenças neurodegenerativas – como doença de Alzheimer, Parkinson e Esclerose Lateral Amiotrófica – além de doenças psiquiátricas (Barnham et al., 2004; Salim, 2014). Uma importante metanálise identificou alterações nos níveis de marcadores de estresse oxidativo em pacientes com TB: um aumento significativo nos níveis das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) e moderado aumento nos níveis de Óxido Nítrico (NO) (Andreazza et al., 2008). Parece haver uma correlação entre as fases do TB e os níveis de defesa antioxidante: o aumento de SOD foi verificado em bipolares maníacos e depressivos, enquanto os níveis de TBARS são maiores em bipolares eufímicos, mas também estão aumentados nos maníacos e depressivos. A hipótese é de que os níveis elevados de SOD seja um mecanismo de compensação ao estresse oxidativo presente nas fases agudas da doença – representado pelos elevados níveis de TBARS (Kunz et al., 2008). Outro dado importante que reforça a forte relação entre estresse oxidativo e TB dizem respeito à capacidade do lítio em prevenir e reverter os danos ao DNA causados pelas EROs. Indivíduos tratados com lítio apresentaram redução significativa no balanço SOD/CAT, levando a um menor estresse oxidativo (Khairova et al., 2011).

O nosso organismo apresenta defesas imunes inatas e adaptativas que protegem de agentes externos e internos, no entanto quando há uma resposta desregulada, todo o sistema biológico, desde células no SNC até a periferia sentem efeitos negativos (Benedetti et al., 2020). Diversas evidências têm apontado para o papel do sistema imune na fisiopatologia do

TB, onde a resposta imune estaria desregulada, e o cérebro seria afetado inclusive por processos autoimunes (Rege and Hodgkinson, 2013). É observado ativação microglial no TB, e conseqüentemente, alterações nas citocinas centrais e periféricas (Stertz et al., 2013). Durante os episódios maníacos, observou-se o aumento das seguintes citocinas pró-inflamatórias: IL-6, Interleucina 2 (IL-2), Interleucina 8 (IL-8), Interferon Gama (IFN- γ) e TNF- α . Por outro lado, durante episódios depressivos, as citocinas anti-inflamatórias IL-4 e IL-10 estão aumentadas. Inclusive, supõe-se que o aumento na liberação de IL-4 induz a transformação das células T Helper em células TH2 e, conseqüentemente, reduz a produção de células TH1 e citocinas pró-inflamatórias (Brietzke et al., 2009; Muneer, 2016). Ainda, algumas quimiocinas – que são uma grande família de pequenas citocinas – estão com seus níveis alterados no TB: aumento nos níveis de CCL11, CCL24 e CXCL10, e redução de CXCL8 (Barbosa et al., 2013).

No contexto do estresse oxidativo, um importante elemento que merece destaque no estudo é o Fator Nuclear Eritroide 2 Relacionado ao Fator 2 (Nrf2). Trata-se de um importante fator nuclear, envolvido na regulação da expressão de cerca de 300 genes, através, principalmente, do Elemento de Resposta Antioxidante (ARE). Esses genes estão envolvidos em processos críticos para as células, a dizer: resposta inflamatória, metabolismo de lipídios, homeostase celular, sobrevivência celular, citoproteção, controle da glicemia e desintoxicação. No entanto, é por sua função de defesa antioxidante contra as EROs durante o estresse oxidativo que o Nrf2 se destaca (Hahn et al., 2017). Os níveis normais de Nrf2 nas células são baixos, sendo mais ativados durante um quadro estressor patológico (Zhang et al., 2020). Em condições de estresse – como a presença de EROs, por exemplo – Nrf2 perde sua ligação com o regulador negativo Keap1, e assim consegue ser deslocado para o núcleo, onde se associa à proteína sMaf e exerce sua função reguladora na transcrição gênica de proteínas e enzimas antioxidantes (Wei et al., 2019). As principais proteínas que sofrem influência da regulação gênica promovida por Nrf2 durante a resposta antioxidante são apresentadas na Tabela 2 (Hahn et al., 2017).

Tabela 2. Principais proteínas associadas à regulação gênica por Nrf2

Enzima	Função
Heme Oxigenase 1 (HO-1)	Catabolismo do grupamento heme (homeostasia celular) (Araujo et al., 2012)
Superóxido Dismutase (SOD)	Dismutação do superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio (Younus, 2018)
Catalase (CAT)	Decomposição do peróxido de hidrogênio (Hu et al., 2016)
Glutathione S Transferase (GST)	Desintoxicação através da conjugação da forma reduzida de glutathione a substratos xenobióticos (Townsend and Tew, 2003)
Glutathione Peroxidase (GPx)	Remoção do peróxido de hidrogênio e dos peróxidos lipídicos das células (Zhang et al., 2020)
Tioredoxina (TrxR)	Redução de espécies reativas de oxigênio (Collet and Messens, 2010)
Glutamato Cisteína Ligase (GCL)	Catalisação da produção do antioxidante Glutathione (GSH) (Franklin et al., 2009)

Fonte: adaptado de Hahn et al. 2017

Outro fator nuclear muito importante no contexto do estresse oxidativo e ativação inflamatória – característicos do TB – é o Fator Nuclear Kappa B (NF- κ B). Trata-se de um fator intimamente envolvido em funções celulares essenciais, tais como sobrevivência celular, proliferação, adesão molecular e resposta inflamatória. Sem dúvidas, a sua função mais bem reconhecida é no sistema inflamatório, através do qual NF- κ B induz, especialmente, a expressão de vários genes referentes às citocinas pro-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 e TNF- α) (Liu et al., 2017). NF- κ B é um fator nuclear que apresenta certa superioridade em relação a outros fatores, isso porque ele – além de influenciar atividades e funções vitais para a célula – também é ativado por diversos estímulos. Os principais estimulantes responsáveis por ativar NF- κ B são a presença de glutamato, IL-1, proteínas neurotóxicas, glicocorticoides, vírus, bactéria e produtos da enzima óxido nítrico sintase reduzível (iNOS) (Glezer et al., 2000). Quando esses fatores estimulantes não estão presentes, NF- κ B fica localizado no citoplasma e ligado a I κ B – que é uma proteína inibitória. É um mecanismo bastante semelhante a Nrf2 e seu regulador negativo Keap1. I κ B, portanto, quando ligado a NF- κ B, o impede de ir para o núcleo, onde exerce seu papel de indutor ou inibidor transcricional. A partir da fosforilação e degradação de I κ B, NF- κ B consegue se translocar para o núcleo e exercer seu papel na célula (Karin, 1999).

Em doenças inflamatórias crônicas – como o TB – o sistema inflamatório está superativado, culminando em um processo de retroalimentação positiva onde cada vez mais citocinas pró-inflamatórias são ativadas (Muneer, 2016; Studart et al., 2015). Ao mesmo tempo, e também em decorrência disso, há uma maior ativação de NF- κ B. Por isso, NF- κ B tem sido cada vez mais estudado por conta de seu envolvimento não somente no TB, mas em outros transtornos psiquiátricos também (Miklowitz et al., 2016). Em um organismo saudável, quando exposto a um estímulo, como o estresse oxidativo, tanto Nrf2 quanto NF- κ B são ativados: o primeiro fator aumenta a expressão de defesas antioxidantes e reduz a degradação de I κ B (proteína inibitória de NF- κ B), culminando no bloqueio da ativação de NF- κ B; enquanto, por outro lado, o segundo fator, ativado também pelo agente estimulante, reduz a transcrição do gene ARE (importante da ativação de Nrf2), resultando no bloqueio da ativação de Nrf2. Dessa forma, em uma resposta à inflamação e ao estresse oxidativo, esses dois fatores são as principais vias de regulação do equilíbrio da resposta antioxidante e inflamatória frente a um agente estressor ou patológico (Ahmed et al., 2017). NF- κ B e Nrf2 interagem com uma complexa gama de moléculas, e essas interações também são dependentes do tipo celular e do contexto em que aquela célula se encontra (Wardyn et al., 2015). No entanto, em transtornos de humor – como o TB – há um desequilíbrio entre esses fatores, havendo uma maior expressão e atividade de NF- κ B enquanto os níveis de Nrf2 estão reduzidos (Elhaik and Zandi, 2015; Hashimoto, 2018). Foi observado menor quantidade de Nrf2 em áreas fundamentais na cognição e comportamento, como Córtex Pré-Frontal (CPF), Giro Denteado e Hipocampo. O déficit cognitivo e o aumento do estado depressivo provocado pela redução nos níveis de Nrf2 em áreas-chave no cérebro foram verificados em animais Nrf2 Knockout (animais que são manipulados geneticamente para não expressarem Nrf2): houve uma prevalência do fenótipo do tipo depressivo, muito provavelmente influenciado pelos altos níveis de citocinas pró-inflamatórias (Hashimoto, 2018). Menores níveis de Nrf2 e BDNF no TB reduzem, em última instância, a resposta antioxidante, culminando em um perfil inflamatório e depressivo (Bouvier et al., 2017).

1.2 Sistema endocanabinoide

1.2.1 Aspectos gerais

Sem dúvidas, a psiquiatria tem sido beneficiada pelos avanços farmacológicos atuais, sobretudo em relação à redução dos efeitos colaterais. No entanto, ainda há bastante a melhorar nesse sentido. O lítio, por exemplo, embora ainda seja considerado o padrão-ouro no tratamento do TB, apresenta efeitos colaterais que envolvem o sistema gastrointestinal, além de ganho de peso, comprometimento cognitivo, alterações renais e nas glândulas paratireoide e tireoide (Gitlin, 2016). O valproato de sódio deve ser evitado em mulheres grávidas, pois seus riscos teratogênicos superam os benefícios na estabilização do humor da mãe (Womersley, 2017). Embora os efeitos colaterais do valproato e da carbamazepina sejam menores ao longo prazo, nos estágios iniciais eles são mais acentuados e comuns, variando de desconforto gastrointestinal à sonolência, por exemplo (Nasrallah et al., 2006). Já a quetiapina, também utilizada no tratamento do TB, apresenta efeitos colaterais extrapiramidais relacionados à sedação, tontura e, principalmente, ganho de peso (Suttajit et al., 2014). Além disso, uma metanálise atual mostrou que cerca de 50% dos pacientes com transtornos psiquiátricos em estado grave não aderem à medicação proposta no tratamento (Semahegn et al., 2020). Esses dados reforçam a importância de se buscar, cada vez mais, novas estratégias terapêuticas e novas abordagens farmacológicas, com menos efeitos adversos e maior aderência por parte dos pacientes. Uma área que vem ganhando bastante destaque nesse sentido é o sistema endocanabinoide, que, por apresentar diversas interações e envolvimento na fisiopatologia do TB, pode proporcionar uma revolução positiva no tratamento do TB (Arjmand et al., 2019).

O sistema endocanabinoide é um sistema de neuromodulação, especialmente do SNC, onde participa de processos importantes como plasticidade sináptica e resposta a agressões externas e internas (Lu and Mackie, 2016). É um sistema complexo, onde seus principais endocanabinoides – canabinoides produzidas pelo próprio organismo – são anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG) (Mechoulam et al., 1995). Eles agem de forma retrógrada – isto é – do neurônio pós-sináptico ao pré-sináptico, e a sua síntese é realizada sob demanda: apenas quando necessário (Lutz, 2004). Os níveis desses dois endocanabinoides estão muito relacionados à cognição, sistema imune e memória, principalmente (Lichtman et al., 2002; Marsicano and Lafenêtre, 2009; Pandey et al., 2009). Dessa forma, as enzimas

lipase monoacilglicerol (MGLL) e amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH), que metabolizam 2-AG e AEA, respectivamente, também são objeto de estudo (Lu and Mackie, 2016). Os principais receptores no sistema endocanabinóide são receptor de canabinóide 1 (CB1) e receptor de canabinóide 2 (CB2), ambos acoplados à proteína G, e com íntima relação com diversas doenças neuropsiquiátricas (Ferretjans et al., 2012; Huang et al., 2016).

1.2.2 Principais receptores endocanabinóides: CB1 e CB2

O professor Allyn Howlett e seu aluno William Devane identificaram em 1988 o receptor endocanabinóide CB1, com a particularidade de ser um receptor acoplado à proteína G e com muita abundância no cérebro (Devane et al., 1988). Os receptores CB1 estão em sua maior parte localizados no SNC, tanto na medula espinhal como no cérebro, por isso têm sido alvo de estudo nos últimos anos, por apresentar uma íntima ligação com o funcionamento da memória, percepção da dor, cognição e comportamento (Kruk-Slomka et al., 2017; Manzanares et al., 2006). A descoberta de CB1 abriu as portas para diversos questionamentos, e o principal deles era o porquê do nosso organismo ter receptores capazes de responder a estímulos externos, como o canabinóide vegetal tetrahydrocannabinol (THC). A partir de então, começou-se a procura pelos endocanabinóides, os quais vieram a ser descobertos poucos anos depois (Marzo et al., 2004). Anos mais tarde, em 1993, foi descoberto o segundo receptor mais importante – do ponto de vista de implicações fisiológicas e patológicas, CB2 (Munro et al., 1993). Diferente de CB1, CB2 está predominantemente presente no Sistema Nervoso Periférico (SNP), em tecidos metabólicos e órgãos internos, e por isso é também chamado na literatura de receptor canabinóide periférico (Valk and Delwel, 1998). Quando as moléculas, em sua maior parte os endocanabinóides, se ligam em CB2, há uma sinalização celular que implica em mecanismos de resistência à insulina ou outras síndromes metabólicas, mas, principalmente, influencia diretamente nas condições inflamatórias (Deveaux et al., 2009; Turcotte et al., 2016). Mesmo em maior presença na periferia, os CB2 são encontrados em diversas células do sistema imune – como micróglia e astrócitos, que, por sua vez, modulam a função imune no cérebro (Cassano et al., 2017). Portanto, em resumo, CB1 está mais expresso no cérebro – onde participa de mecanismos relacionados à neurotransmissão, cognição, humor, fome, controle da função motora e neuroproteção – mas também é encontrado, em menor quantidade, em outros sistemas importantes, como o sistema cardiovascular – onde participa da disfunção cardíaca, por exemplo. CB2, por sua vez, está mais expresso em órgãos

e sistemas periféricos, como fígado, baço e trato gastrointestinal – atuando na regulação da resposta imune, em processos de antifibrinogênese e na regulação da resistência óssea e densidade mineral. Embora com menor expressão, há a presença de CB2 também no cérebro – onde atua na modulação neuroimune, neuroproteção e neurogênese (An et al., 2020).

CB1 e CB2 fazem parte de uma superfamília de receptores transmembrana, e, por conta dessa característica estrutural, apresentam alças intracelulares com um domínio C terminal acoplado à proteína G. Na maior parte das células, a sinalização via proteína G inibe a adenilato ciclase – enzima responsável por metabolizar adenosina trifosfato (ATP) em adenosina monofosfato cíclico (AMPc). Além disso, fatores estimulantes como o fluxo de Ca^{+2} e fosfolipases A e C levam à fosforilação da proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK). A consequência disso é a regulação de várias atividades celulares, desde regulação da expressão gênica até sobrevivência ou apoptose celular (Howlett, 2005; Marzo et al., 2004). Por causa da importância desses receptores, qualquer desbalanço nos seus níveis – seja por redução (*downregulated*) ou aumento na sua expressão (*upregulated*), pode apresentar implicações na fisiopatologia de algumas doenças. Na dor neuropática, CB1 e CB2 estão *upregulated*, tanto no centro como na periferia, e isso leva, especificamente, ao aumento da resposta analgésica. Em algumas formas de câncer também há maior expressão dos dois receptores, contribuindo para uma resposta antitumoral pelos canabinoides. Em doenças psiquiátricas, como a Esquizofrenia, têm-se observado aumento da expressão de CB1, por exemplo, mas ainda não se sabe a implicação disso no curso da doença. Ainda, em doenças neuroinflamatórias – como Esclerose Múltipla e Esclerose Amiotrófica Lateral – têm-se observado maior expressão de CB2 em células gliais e CB1 no cérebro dos pacientes, e, por razão disso, há uma redução da inflamação e aumento da neuroproteção através da diminuição da liberação de glutamato, por exemplo (Miller and Devi, 2011).

1.2.3 Principais endocanabinoides: AEA e 2-AG

Seguindo a onda de descobertas a respeito daquilo que mais tarde seria conhecido como sistema endocanabinoide, em 1992 o professor Mechoulam – ícone e pioneiro nos estudos da planta *Cannabis sativa*, William Devane – que identificou o receptor CB1, e outros pesquisadores isolaram uma nova molécula: AEA – um endocanabinoide que se liga a CB1 – e está presente, sobretudo, no cérebro (Devane et al., 1992). A AEA – assim como os outros endocanabinoides – tem a característica peculiar de ser sintetizada sob demanda (Lutz, 2004).

Ela é gerada a partir da clivagem de N-araquidonoil fosfatidiletanolamina (NAPE) por uma fosfolipase D (NAPE-PLD). A clivagem de AEA é feita, principalmente, pela enzima FAAH. Os produtos dessa clivagem dão origem ao ácido araquidônico (AA) e etanolamina, ou a prostaglandina-etanolamidas (PGs-EA), quando oxigenado pela enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) (Maccarrone, 2017).

Ao se ligar em CB1, AEA provoca uma cascata de eventos intracelulares que regulam funções fisiológicas muito importantes, como apetite e metabolismo da glicose, percepção da dor e controle do humor (Kirkham, 2005; Manzanares et al., 2006; Nogueiras et al., 2009; Witkin et al., 2005). Além disso, AEA parece influenciar na reprodução feminina e gravidez, já que AEA, na placenta e sangue periférico, está associada ao aborto espontâneo e gravidez ectópica (Molvarec et al., 2015). Outro estudo mostra que baixos níveis de FAAH e altos níveis de AEA estão envolvidos na falha da gravidez contínua após a fertilização in vitro (Maccarrone, 2002). O momento em que há mais produção de AEA parece ser após algum evento estressor, como um intenso exercício físico aeróbico. Isso acontece provavelmente como mecanismo de defesa: durante o exercício, o hormônio cortisol estimula a produção de AEA, que, por sua vez, induz o aumento de BDNF – que exercerá seus efeitos neuroplásticos e antidepressivos. Portanto, ao se ligar em CB1, AEA exerce importante papel protetor de neurônios cerebrais (Heyman et al., 2012).

Após alguns anos da descoberta de AEA, o professor Mechoulam identificou, em 1995, outro endocanabinóide muito importante: 2-AG (Mechoulam et al., 1995). 2-AG é cerca de 170 vezes mais prevalente no cérebro do que a AEA, além de ser expresso em todo corpo (Stella et al., 1997). Diferente de AEA – que tem baixa afinidade por CB2 – 2-AG tem alta afinidade pelos dois receptores, CB1 e CB2 (Reggio, 2010) A maior parte de 2-AG é sintetizada a partir de fosfolípidios de membrana através de duas enzimas principais: fosfolipase CB e diacilglicerol lipase (Murataeva et al., 2014). Da mesma forma que 2-AG é rapidamente formado, também é degradado em AA e glicerol – através da enzima MGLL (Ueda et al., 2011).

Semelhante à AEA, 2-AG é um endocanabinoide muito importante no funcionamento do organismo, uma vez que também é um neurotransmissor lipídico que participa da sinalização do cérebro e de todo o corpo, sobretudo no que diz respeito às funções imunológicas. É através de sua sinalização retrograda no cérebro – do neurônio pós-sináptico em direção ao pré-sináptico – que 2-AG tem grande influência na resposta imunológica, por exemplo, reduzindo a expressão de citocinas pró-inflamatórias (Panikashvili et al., 2005).

1.2.4 Principais enzimas de hidrólise dos endocanabinoides: FAAH e MGLL

Nos anos de 1996 e 1997, as enzimas FAAH e MGLL foram identificadas e caracterizadas (Cravatt et al., 1996; Karlsson et al., 1997). A primeira faz a clivagem de AEA, enquanto a segunda cliva 2-AG. Essas enzimas são fundamentais para o controle dos níveis de endocanabinoides nas células: a síntese e a degradação de AEA e 2-AG caminham juntas, de acordo com a demanda (Lu and Mackie, 2016). A descoberta dos componentes do sistema endocanabinoide – receptores, endocanabinoides e, especialmente, as enzimas que clivam os endocabinoides – permitiu que estratégias terapêuticas fossem traçadas. Um exemplo é o uso de inibidores de FAAH e MGLL com o propósito de que – com o aumento nos níveis de endocanabinoides circulantes – o potencial analgésico fosse potencializado (Lau et al., 2014). Outro estudo aponta para o uso de inibidores de FAAH e MGLL como meio de aumentar os níveis de endocanabinoides e, assim, reduzir o comportamento ansiolítico. O que os autores relataram foi que aumentar, simultaneamente, AEA e 2-AG pode ser uma proposta terapêutica interessante a ser explorada (Bedse et al., 2018). Ainda, os inibidores de FAAH e MGLL têm sido explorados também nas doenças psiquiátricas, onde se tem visto que o uso crônico – por várias semanas – de URB597, um inibidor de FAAH, tem mostrado um efeito parecido ao dos antidepressivos (Bortolato et al., 2007).

1.2.5 Sistema endocanabinóide e os fatores nucleares NF- κ B e Nrf2

Conhecido os principais componentes do sistema endocanabinoide, é necessário entender qual a relevância deles no organismo e, mais especificamente, como eles interferem nos processos anti-inflamatórios e de proteção antioxidante – mediados, respectivamente, por NF- κ B e Nrf2. A AEA, que atua, sobretudo, nos receptores CB1, modula a atividade de NF- κ B e a consequência disso são efeitos anti-inflamatórios, imunomoduladores e pró-apoptóticos. A hipótese proposta para esse processo é a de que AEA inibe diretamente o complexo inibidor kappa B quinase (IKK), que seria responsável por fosforilar I κ B – molécula ligada a NF- κ B, e que, somente quando fosforilada, desloca-se de NF- κ B, permitindo que este promova seu papel regulador na transcrição de genes relacionados à resposta inflamatória. Portanto, em resumo à teoria, AEA inibe a ativação de NF- κ B, provando os efeitos anteriormente mencionados (Sancho et al., 2002). Outro estudo corrobora com esse mecanismo, observando que lipopolissacarídeo (LPS) – uma molécula muito

conhecida por sua capacidade de induzir o processo inflamatório celular – provoca o aumento da síntese de AEA como forma de proteção à elevada ativação da resposta inflamatória (Liu et al., 2003). Outro mecanismo que acontece, especialmente em linfócitos, é a inibição da enzima FAAH – responsável pela degradação de AEA. LPS parece inibir essa enzima, de forma que os níveis de AEA ficam aumentados, e assim possam corroborar com a proteção anti-inflamatória na célula (Maccarrone, 2002). Ainda, em lesões cerebrais, por exemplo, observou-se a liberação de endocanabinoides – especialmente AEA – que protege o organismo contra um dano neuronal que seria promovido pelas citocinas liberadas por macrófagos e micróglia no local da lesão. AEA consegue produzir esse efeito através da rápida indução da proteína quinase fosfatase-1 ativada por mitogênio (MKP-1), interrompendo, assim, a transdução do sinal mediada por MAPK (Eljaschewitsch et al., 2006).

Semelhantemente à AEA, 2-AG apresenta propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetoras. Isso se dá através da sinalização MAPK/NF- κ B, via PPAR- γ – um importante receptor nuclear – onde há inibição da fosforilação de NF- κ Bp65 (subunidade de NF- κ B) e inibição da expressão de COX-2 (Du et al., 2011). A ação protetora de 2-AG é corroborada por outro estudo, onde se verificou, em modelo animal knockout para o receptor CB1 (CB1^{-/-}), que, em ratos com trauma cefálico, a administração de 2-AG, embora não tenha melhorado o desempenho neurológico desses animais, evitou o aumento de NF- κ B (Panikashvili et al., 2005). Ainda, outro estudo com modelo animal de doença de Parkinson – induzido por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) – mostrou que 2-AG age como mecanismo de defesa natural contra a inflamação, uma vez que foi regulado positivamente após a administração de MPTP, podendo ser considerado um potencial alvo terapêutico (Mounsey et al., 2015). O conhecimento de que 2-AG pode atuar como agente que estimula a resposta anti-inflamatória e neuroprotetora impulsionou estudos que usassem inibidores de MGLL – a enzima responsável por degradar 2-AG. Utilizando URB602, um inibidor de MGLL, em modelo animal, verificou-se um aumento nos níveis de 2-AG e uma melhora referente às reações inflamatórias provocadas por λ -carragenina (um tipo de polissacarídeo usado como agente pró-inflamatório) (Comelli et al., 2007).

A utilização de inibidores das enzimas responsáveis pela clivagem dos endocanabinoides tem sido uma estratégia muito utilizada também no estudo do fator nuclear Nrf2. Por meio de URB597 – inibidor de FAAH – verificou-se um aumento nos níveis de AEA, que por sua vez foi responsável por induzir à expressão da enzima heme oxigenase-1 (HO-1), muito importante na degradação do grupamento heme e geração de moléculas

antioxidantes, biliverdina e monóxido de carbono (CO) (Li et al., 2013). Dessa forma, não somente a presença de grupamento heme, mas também outros agentes provenientes do estresse oxidativo, citocinas, fatores de crescimento, óxido nítrico, entre outros, induzem – sobretudo via Nrf2 – a expressão de OH-1. Portanto, através de sua ação enzimática, OH-1 protege a célula e o tecido, exercendo seus efeitos antiapoptóticos, antiproliferativos, anti-inflamatório e antioxidante (Loboda et al., 2016). Esse resultado foi confirmado por Biernacki e colegas recentemente, onde URB597 foi capaz de inibir FAAH e, em decorrência disso, aumentar os níveis de AEA, GPR55 (receptor canabinoide) e Nrf2. O aumento nos níveis de Nrf2 foi responsável por induzir a expressão de superóxido mutase (Zn-SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione reductase e vitamina E – confirmando seu caráter antioxidante (Biernacki et al., 2020). A inibição de MGLL também parece ser um alvo terapêutico – uma vez que quanto menos dessa enzima estiver ativa, menos 2-AG será clivado e menos AA será formado. Dado que AA é precursor para a formação de prostaglandinas neuroinflamatórias, inibir MGLL e manter os níveis de 2-AG altos é fundamental para a presença de um perfil anti-inflamatório, antioxidante e para proteção do organismo (Nomura et al., 2011).

1.3 Canabidiol

1.3.1 Histórico e Estrutura

A planta *Cannabis sativa*, mais popularmente conhecida como maconha, foi encontrada em achados arqueológicos e históricos que datam de 4.000 anos antes de Cristo, na China. Por apresentar diversas propriedades e aplicações, foi utilizada na fabricação de fibras, fios, cordas, tecidos e papel. Mas foi na Índia, anos mais tarde, que a *Cannabis* foi introduzida na medicina oriental para tratar das mais variadas complicações, desde dores reumáticas até malária (Zuardi, 2006). Em 1963 e 1964 o professor Mechoulam e seu grupo de pesquisa elucidaram a estrutura das principais substâncias presentes na *Cannabis* – os canabinoides canabidiol (CBD) e tetra-hidrocanabinol (Δ^9 -THC), respectivamente (Gaoni and Mechoulam, 1964). Dos mais de 100 canabinoides presentes na *Cannabis*, sem dúvida nenhuma o Δ^9 -THC foi o mais estudado até hoje, todavia, outro canabinoide que vem ganhando destaque, em diversas áreas da saúde, é o CBD (Lafaye et al., 2017). Embora elucidado em 1963 pelo professor Mechoulam, o CBD, cuja fórmula química é $C_{21}H_{30}O_2$, foi

isolado pela primeira vez em 1940 por Roger Adams (Adams et al., 1940). Anos mais tarde, Jones e Mechoulam identificaram a estrutura cristalina do CBD e observaram dois isômeros ópticos, onde a diferença estaria apenas na estereoquímica da conexão entre as porções resorcinol e o núcleo de terpeno (Jones et al., 1977). Semelhante à *Cannabis*, o CBD é muito lipofílico, atravessa a barreira hematoencefálica facilmente e é distribuído e acumulado no tecido adiposo (Oberbarnscheidt and Miller, 2020). O CBD apresenta pouca afinidade pelos receptores CB1 e CB2, e parece exercer uma atividade modulatória negativa – atuando como antagonista nesses receptores. Além disso, ele permite que os níveis de endocanabinoides permaneçam elevados na fenda sináptica, e isso é possível por dois motivos: em que pese o CBD inibir a recaptação celular pela proteína de ligação de ácidos graxos (FABP), também diminui a hidrólise de AEA e 2-AG por FAAH e MGLL, respectivamente (Bonaccorso et al., 2019). O CBD possui potencial terapêutico no sistema cardiovascular, em doenças neurodegenerativas, no câncer, em doenças metabólicas, doenças inflamatórias e acompanhadas de estresse oxidativo, além de agir também como antiepilético, sedativo, ansiolítico e antipsicótico (Oguntibeju, 2019; Zuardi, 2008). Diferentemente do Δ^9 -THC – que está associado com os efeitos psicoativos da planta, como pensamentos desconexos, percepção sensorial alterada, delírios e experiências alucinatórias – o CBD não apresenta esses efeitos (Casarett et al., 2019).

1.3.2 Potencial terapêutico do CBD nos transtornos psiquiátricos

Nos últimos anos, têm-se estudado cada vez mais o uso do CBD nos transtornos psiquiátricos. Bonaccorso e colegas desenvolveram uma revisão sistemática muito interessante a respeito do potencial terapêutico do CBD nesse contexto e chegaram às seguintes conclusões: a) CBD reduziu significativamente a paranoia e a ansiedade em indivíduos com desordens psicóticas; b) CBD diminuiu a ansiedade, o comprometimento cognitivo e desconforto na fala em pacientes com desordens de ansiedade; c) em grupos de alta e de baixa esquizotipia, observou-se melhoria no reconhecimento da emoção fácil após administração de CBD. Diversos estudos têm sido realizados, e outros ainda estão em andamento, corroborando para a potencial eficácia do CBD na fisiopatologia dos transtornos mentais (Bonaccorso et al., 2019). Outra revisão sistemática mais atual tem ido de encontro com os estudos anteriores: o CBD conseguiu aliviar os sintomas relacionados à abstinência de *Cannabis*, por exemplo, além de contribuir na melhora clínica de pacientes com esquizofrenia

e Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (Khan et al., 2020). Na esquizofrenia, um transtorno bastante debilitante, o CBD tem surgido, por exemplo, como uma alternativa interessante aos antipsicóticos tradicionais – antagonistas do receptor D2 de dopamina – que apresentam uma série de efeitos colaterais. Os ensaios clínicos, embora preliminares, sugerem que o CBD é seguro e, de fato, reduz a psicose em pacientes (Davies and Bhattacharyya, 2019).

O CBD se liga, embora com baixa afinidade, aos receptores CB1 e CB2, mas é em CB2, presente principalmente em células do sistema imune, como linfócitos T e B, macrófagos e monócitos, que o CBD exerce mais influência. Além desses receptores, CBD atua em outros, como os de serotonina 5HT1A/2A/3AU e de glutamato GLUT (Pretzsch et al., 2019). Uma vez que esses receptores são ativados pelo CBD, modula-se a liberação de neurotransmissores-chave no funcionamento do organismo: glutamato, ácido gama-aminobutírico (GABA) e serotonina (Oberbarnscheidt and Miller, 2020). É através dos receptores de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV1) que o CBD induz o aumento de glutamato em regiões ricas em neurônios piramidais excitatórios - como os gânglios da base (GB). Já em outras regiões do cérebro como o córtex pré-frontal dorsomedial (DMPFC) – que tem menos interneurônios GABAérgicos se comparado com os GB – CBD reduz os níveis de glutamato através da supressão da atividade dos neurônios glutamatérgicos por meio dos receptores 5-HT1A. Ainda, o CBD aumenta os níveis de GABA tanto nos GB quanto DMPFC (Pretzsch et al., 2019). Avaliado no contexto das enzimas do citocromo P450, o CBD inibe CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4, que são responsáveis pela metabolização de vários medicamentos. Portanto, CBD interfere nos níveis séricos de vários medicamentos, além dos próprios níveis de neurotransmissores (Zanger and Schwab, 2013).

1.3.3 Potencial antioxidante e anti-inflamatório do CBD

Uma abordagem química bastante interessante mostrou que a estrutura molecular do CBD apresenta potencial antioxidante: os radicais catiônicos livres se comportam em ressonância e os elétrons desemparelhados se distribuem nas porções éter, alquil e anel benzênico. Essa característica influencia na densidade de spin e estabilidade dos radicais livres, e, além disso, é capaz de interromper as reações em cadeia dos radicais livres, capturando-os ou transformando-os em conformações menos ativas (Borges et al., 2013). O superóxido é gerado, principalmente, pelas enzimas xantina oxidase (XO) e NADPH oxidase,

e participa de vários processos químicos e fisiológicos (Matsumoto et al., 2003). No entanto, o CBD evita a formação de O_2^- através da regulação dessas enzimas (Sunda and Arowolo, 2020). Ainda, o CBD inibe a óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e, conseqüentemente, a produção de NO (Esposito et al., 2006). Em uma revisão bibliográfica recente, Atalay e colegas trouxeram os efeitos antioxidantes diretos do CBD, onde ele atua em duas vertentes: reduzindo a geração de EROs e aumentando a defesa antioxidante. Em relação à primeira forma de atuação do CBD, ele diminui a produção de EROs por meio da redução da atividade de enzimas pró-oxidantes – como XO, e induz a quelação de íons de metal de transição. Já no que se refere ao segundo meio de atuação do CBD, ele induz a atividade de enzimas antioxidantes, aumenta os níveis de micronutrientes que dão suporte às enzimas antioxidantes (Zn, por exemplo), aumenta os níveis de antioxidantes não enzimáticos, e, ainda, reduz as modificações oxidativas de proteínas e DNA (Atalay et al., 2019).

O CBD apresenta atividade anti-inflamatória, principalmente atuando através dos receptores CB1 e CB2. Embora possua baixa afinidade por eles, CBD age como modulador alostérico negativo de CB1 e agonista inverso de CB2 (Laprairie et al., 2015; Pertwee, 2008). CBD impede a ativação de CB1 e CB2, reduzindo a formação de EROs e de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , além de inibir a proliferação de células T (Han et al., 2009; Jean-Gilles et al., 2015). O efeito anti-inflamatório que o CBD exerce por meio de CB1 e CB2 se dá pela inibição da adenilato ciclase e dos canais de Ca^{+2} voltagem-dependente (Condie et al., 1996; Ross et al., 2008). Ao mesmo tempo, ativa MAPK, a proteína alvo mecanístico da rapamicina (mTOR) e os canais de K^+ ; e aumenta a expressão dos receptores ativados por proliferador de peroxissoma (PPAR γ) (Giacoppo et al., 2017; Hwang et al., 2017; O'Sullivan, 2016). O receptor PPAR γ é membro de uma superfamília de receptores que interagem diretamente com fatores nucleares importantes na célula, como NF- κ B e Nrf2. PPAR γ induz a degradação de p65 (subunidade de NF- κ B), inibindo a expressão de genes pró-inflamatórios como COX-2, TNF- α e IL-6. Por outro lado, PPAR γ contribui para a atividade de Nrf2, que controla e promove a expressão de genes relacionados à proteção antioxidante. Existe um sistema de retroalimentação positiva, onde PPAR γ coopera com Nrf2, e este, por sua vez, regula a expressão de PPAR γ . Portanto, através de PPAR γ , o CBD exerce suas propriedades antioxidante e anti-inflamatória (Atalay et al., 2019). Kozela e colegas mostraram que em um cenário com um estressor externo à célula, como uma infecção bacteriana (caracterizada pela presença de LPS), por exemplo, o receptor do tipo Toll 4 (TLR4) seria ativado, e essa ativação desencadearia diversos processos pró-inflamatórios: ativação da quinase associada ao

receptor de interleucina-1 (IRAK-1), fosforilação da subunidade p65 de NF- κ B e, por fim, o aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias. Kozela e seu grupo de pesquisa mostraram que CBD atua em algumas dessas etapas, mas, principalmente, age inibindo a formação de IRAK-1 e diminuindo a fosforilação de p65, reduzindo a ação pró-inflamatória. Além disso, CBD atua em outro processo, aumentando a proteção anti-inflamatória. Em um contexto inflamatório, há a expressão de interferon beta (IFN- β), que por sua vez induz a fosforilação da família de proteínas Janus quinases (JAK) e à ativação das proteínas transdutoras de sinais e ativadoras de transcrição 1 e 3 (STAT1 e STAT3, respectivamente). O CBD contribui para a fosforilação de STAT3, que, uma vez fosforilado, inibe a STAT1 – que é responsável por uma resposta pró-inflamatória – e exerce efeito anti-inflamatório direto, através da inibição da transcrição de NF- κ B (Kozela et al., 2010).

1.4 Justificativa

Baseado na gravidade do TB e nas complexas e negativas consequências que essa doença traz aos pacientes e à sociedade, esse trabalho tem como missão central investigar os possíveis mecanismos benéficos do CBD na fisiopatologia do TB. Através da realização de experimentos amplamente validados na pesquisa científica e no vasto estudo da literatura, o que se espera encontrar é um reequilíbrio nos fatores nucleares NF- κ B e Nrf2, e, conseqüentemente, uma melhora clínica dos pacientes em uso do CBD, devido ao seu potencial antioxidante e anti-inflamatório. Além disso, espera-se encontrar uma mudança positiva nos níveis das enzimas MGLL e FAAH – fundamentais na dinâmica do sistema endocanabinoide em indivíduos saudáveis.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Discutir o potencial anti-inflamatório e antioxidante do CBD em pacientes com TB através da modulação de NF- κ B e Nrf2.

2.2 Objetivos específicos

- Comparar os níveis de expressão gênica de NF- κ B e Nrf2 entre pacientes bipolares e controles;
- Verificar se o CBD é capaz de reequilibrar os níveis de NF- κ B e Nrf2 em pacientes bipolares após o tratamento de oito semanas;
- Identificar se há diferença, em nível de expressão gênica, das enzimas MGLL e FAAH – fundamentais no funcionamento do sistema endocanabinoide – entre pacientes bipolares e controles;
- Verificar se o CBD exerce influência nos níveis de MGLL e FAAH em pacientes bipolares após o tratamento de oito semanas;
- Entender a conexão entre o CBD, endocanabinoides, enzimas metabólicas e fatores NF- κ B e Nrf2

PARTE III

4. Discussão

O TB é uma doença complexa e que merece especial atenção médica e científica. Sobretudo no contexto inflamatório e antioxidante, diversas vias biológicas caracterizam e individualizam a fisiopatologia do TB (Scaini et al., 2020). Os resultados obtidos nas análises de qPCR, cujo objeto foi avaliar os níveis de expressão gênica, mostraram que – de fato – pacientes diagnosticados com TB apresentam um perfil inflamatório e de estresse oxidativo muito mais proeminente do que indivíduos saudáveis. Os fatores NF- κ B e Nrf2 – intimamente relacionados com a expressão de citocinas inflamatórias e moléculas antioxidantes de proteção – estão significativamente aumentados nos pacientes (Bristot et al., 2021). Encontramos aquilo que a literatura já indicava nesse contexto: a existência de um perfil inflamatório alterado como uma possível condição no TB. O fator NF- κ B está mais expresso nos pacientes, e isso é acompanhado de uma maior expressão de citocinas pró-inflamatórias – principalmente (Stertz et al., 2013). Nossa hipótese é a de que o nosso organismo entenda o aumento da expressão de NF- κ B como um sinal de que as ações inflamatórias estão aumentadas, e que isso – em excesso, como o é no TB – levaria a um intenso metabolismo e produção de EROs. Para balancear isso, há um aumento na expressão gênica de Nrf2 – que por sua vez induz o aumento da expressão de moléculas envolvidas na defesa antioxidante (Cuadrado et al., 2014).

Nossos resultados indicam também que há uma relação entre a fisiopatologia do TB e o sistema endocanabinoide, uma vez que as principais enzimas desse sistema – MGLL e FAAH – têm seus níveis de expressão aumentados nos pacientes quando comparados com indivíduos saudáveis. Pacientes com TB apresentam diversos mecanismos fisiopatológicos alterados, que vão desde o metabolismo de glicose até estado de humor – e a maioria desses mecanismos são influenciados pelos níveis dos endocanabinoides AEA e 2-AG (Stampanoni Bassi et al., 2018). O aumento da expressão de MGLL e FAAH parece ser uma característica do TB, e também um alvo terapêutico bastante promissor – uma vez que a inibição dessas enzimas permitiria o restabelecimento do equilíbrio no sistema endocanabinoide dos pacientes e, em consequência disso, o equilíbrio de moléculas e proteínas envolvidas na inflamação e na proteção antioxidante do paciente (Bristot et al., 2021; Schmidt et al., 2021).

Outro resultado interessante mostrou a correlação positiva entre os níveis de expressão de MGLL e a pontuação dos pacientes na escala Montgomery-Asberg Depression Rating Scale (MADRS) – que consiste em uma das mais importantes formas de avaliar a severidade

de episódios depressivos em pacientes com TB (Thase et al., 2021). O aumento na expressão de MGLL parece estar relacionado com os sintomas depressivos, reforçando a hipótese de que há comunicação entre o sistema endocanabinoide e a fisiopatologia do TB, pois níveis elevados de MGLL implicam em maior clivagem de 2-AG, resultando em um amplo quadro inflamatório, com possíveis sinais clínicos de depressão – o qual pode ser verificado por meio do escore da escala MADRS (Turcotte et al., 2015).

Esses achados biomoleculares, muitas vezes, corroboram com os da clínica, onde os pacientes mostram diversos prejuízos psicológicos, comportamentais, cognitivos e sociais; e esses prejuízos podem ser estimados através de escalas e interpretação médica. Estudar as rotas bioquímicas envolvidas nas alterações de perfil inflamatório, de estresse oxidativo e do sistema endocanabinoide pode significar um grande avanço no desenvolvimento de estratégias terapêuticas – sobretudo farmacológicas – no tratamento do TB (López-Muñoz et al., 2018). A busca por novas estratégias terapêuticas vem acompanhada da preocupação em aumentar a eficiência do tratamento e reduzir os efeitos colaterais. Nesse sentido, nos últimos anos tem-se explorado bastante não só a influência do sistema endocanabinoide na fisiopatologia do TB, mas também o potencial terapêutico do CBD. Ele atua direta e indiretamente como agente antioxidante ao inibir, em primeiro lugar, a atividade de enzimas como XO – que gera EROs; e, em segundo lugar, ao potencializar a atividade de enzimas antioxidantes como a SOD, por exemplo. O CBD atua também como agente anti-inflamatório, promovendo o aumento nos níveis de AEA – que no receptor CB1 produz um efeito maléfico, uma vez que induz a formação de EROs e TNF- α ; e no receptor CB2 protege o organismo do excesso de resposta inflamatória ao inibir a formação de EROs e TNF- α . Trata-se de um dado importante, pois CB2 está mais expresso no sistema periférico, sobretudo em órgãos relacionados à regulação do sistema imune – dessa forma, o CBD, ao se ligar aos receptores CB2, produz seu efeito anti-inflamatório (Atalay et al., 2019).

Nosso grupo demonstrou – por meio da técnica de qPCR – que os níveis de NF- κ B, Nrf2, MGLL e FAAH estão aumentados nos pacientes não tratados com CBD, quando comparados com os indivíduos controle. No entanto, não se verificou se o CBD atua – de fato – como agente antioxidante e anti-inflamatório nesses alvos. A primeira justificativa para isso é a de que nosso grupo amostral foi muito reduzido devido a dificuldades no recrutamento de mais pacientes. Isso implica diretamente na qualidade do resultado, uma vez que a técnica de qPCR é bastante sensível e exige um n amostral maior para que se possa tirar conclusões mais seguras. Além disso, há diversas variáveis a se levar em conta, como por exemplo o tipo de

medicação que os pacientes já utilizavam. Embora o CBD tenha potencial de agir sobre MGLL e FAAH, outros medicamentos como imipramina e tianeptina parecem também interagir com essas enzimas uma vez que aumentam os níveis de AEA e 2-AG no hipocampo, estriado dorsal e periferia (Smaga et al., 2014). Além disso, o lítio parece estar envolvido no aumento da expressão de genes moduladores por Nrf2, enquanto o ácido valproico – outro estabilizador de humor – parece produzir o efeito oposto, suprimindo Nrf2 (Alural et al., 2015; Palsamy et al., 2014). Portanto, percebe-se que, por haver diversas variáveis, principalmente devido aos diferentes mecanismos de ação dos medicamentos utilizados nos pacientes, o ideal seria realizar mais experimentos a partir de um n amostral maior, para que esses problemas sejam superados.

5 Conclusões e Perspectivas

5.1 Conclusões

- Corroboramos com a literatura ao verificar que os pacientes com TB apresentam um perfil inflamatório e de estresse oxidativo muito mais proeminente do que indivíduos saudáveis;
- Os fatores NF- κ B e Nrf2 estão significativamente aumentados nos pacientes quando comparados com os indivíduos saudáveis;
- Verificamos que há uma relação entre a fisiopatologia do TB e o sistema endocanabinoide, já que as enzimas MGLL e FAAH estão significativamente mais expressas em pacientes com TB quando comparados com os indivíduos saudáveis;
- Há uma correlação positiva entre os níveis de expressão de MGLL e a pontuação dos pacientes na escala MADRS, reforçando a hipótese de que o aumento na expressão de MGLL pode estar relacionado com os sintomas depressivos;
- Pelos resultados preliminares e decorrentes das dificuldades encontradas no estudo, o CBD não se mostrou um agente antioxidante e anti-inflamatório nos alvos por nós investigados;
- O CBD não reequilibrou os níveis de NF- κ B e Nrf2 em pacientes com TB, nem exerceu influência significativa nos níveis de MGLL e FAAH após o tratamento de oito semanas.

5.2 Perspectivas

Verificamos que os pacientes com TB apresentaram diferenças significativas em relação ao perfil inflamatório e de resposta antioxidante quando comparados com indivíduos saudáveis. Também observamos que o sistema endocanabinoide está alterado em pacientes com TB, e isso vai de encontro com muitos mecanismos bioquímicos descritos na fisiopatologia do TB. Foi investigado, ainda, se o CBD era capaz de exercer função anti-inflamatória e antioxidante no tratamento de pacientes com TB.

Todo o nosso trabalho se deu no contexto da análise de expressão gênica, e, portanto, a partir de agora, pretendemos explorar a nível proteico, através de técnicas bioquímicas e imunológicas (como a dosagem de citocinas séricas, marcadores de estresse oxidativo, além

de outras moléculas relevantes) o potencial do CBD no tratamento do TB. Acreditamos que as limitações apresentadas no decorrer do trabalho – reduzido tamanho amostral, dificuldades da técnica utilizada e contexto de pandemia da COVID-19 – reproduziram um resultado bastante preliminar, que pode ser aperfeiçoado.

Conforme foi apresentado nesse trabalho, uma das enzimas mais importantes do sistema endocanabinoide – MGLL – apresentou correlação positiva com a escala MADRS, e isso reforça o envolvimento dos componentes do sistema endocanabinoide com a fisiopatologia do TB. Não só MGLL pode ser um alvo a ser explorado com mais afinco, como também podemos investigar a interação do CBD com outros elementos de igual importância, que talvez funcionem, direta ou indiretamente, como alvos terapêuticos no tratamento do TB.

6 Referências

- Adams, R., Hunt, M., Clark, J.H., 1940. Structure of Cannabidiol, a Product Isolated from the Marihuana Extract of Minnesota Wild Hemp. I. *J. Am. Chem. Soc.* 62, 196–200. <https://doi.org/10.1021/ja01858a058>
- Ahmed, S.M.U., Luo, L., Namani, A., Wang, X.J., Tang, X., 2017. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* 1863, 585–597. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.005>
- Alural, B., Ozerdem, A., Allmer, J., Genc, K., Genc, S., 2015. Lithium protects against paraquat neurotoxicity by NRF2 activation and miR-34a inhibition in SH-SY5Y cells. *Front. Cell. Neurosci.* 9. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00209>
- An, D., Peigneur, S., Hendrickx, L.A., Tytgat, J., 2020. Targeting Cannabinoid Receptors: Current Status and Prospects of Natural Products. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 5064. <https://doi.org/10.3390/ijms21145064>
- Andreazza, A.C., Kauer-Sant'Anna, M., Frey, B.N., Bond, D.J., Kapczinski, F., Young, L.T., Yatham, L.N., 2008. Oxidative stress markers in bipolar disorder: A meta-analysis. *J. Affect. Disord.* 111, 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2008.04.013>
- Araujo, J.A., Zhang, M., Yin, F., 2012. Heme Oxygenase-1, Oxidation, Inflammation, and Atherosclerosis. *Front. Pharmacol.* 3. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00119>
- Arjmand, S., Behzadi, M., Kohlmeier, K.A., Mazhari, S., Sabahi, A., Shabani, M., 2019. Bipolar disorder and the endocannabinoid system. *Acta Neuropsychiatr.* 31, 193–201. <https://doi.org/10.1017/neu.2019.21>
- Ashok, A.H., Marques, T.R., Jauhar, S., Nour, M.M., Goodwin, G.M., Young, A.H., Howes, O.D., 2017. The dopamine hypothesis of bipolar affective disorder: the state of the art and implications for treatment. *Mol. Psychiatry* 22, 666–679. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.16>
- Atalay, S., Jarocka-Karpowicz, I., Skrzydlewska, E., 2019. Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. *Antioxidants* 9, 21. <https://doi.org/10.3390/antiox9010021>
- Autry, A.E., Monteggia, L.M., 2012. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Neuropsychiatric Disorders. *Pharmacol. Rev.* 64, 238–258. <https://doi.org/10.1124/pr.111.005108>
- Baldessarini, R.J., Faedda, G.L., Offidani, E., Vázquez, G.H., Marangoni, C., Serra, G., Tondo, L., 2013. Antidepressant-associated mood-switching and transition from unipolar major depression to bipolar disorder: A review. *J. Affect. Disord.* 148, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2012.10.033>
- Baldessarini, R.J., Tondo, L., Vázquez, G.H., 2019. Pharmacological treatment of adult bipolar disorder. *Mol. Psychiatry* 24, 198–217. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0044-2>

- Baldessarini, R.J., Vázquez, G.H., Tondo, L., 2020. Bipolar depression: a major unsolved challenge. *Int. J. Bipolar Disord.* 8, 1. <https://doi.org/10.1186/s40345-019-0160-1>
- Balon, R., 2009. Old but still gold: Lithium in stabilizing the mood. *Indian J. Psychiatry* 51, 157. <https://doi.org/10.4103/0019-5545.49460>
- Barbosa, I.G., Rocha, N.P., Bauer, M.E., de Miranda, A.S., Huguet, R.B., Reis, H.J., Zunszain, P.A., Horowitz, M.A., Pariante, C.M., Teixeira, A.L., 2013. Chemokines in bipolar disorder: Trait or state? *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 263, 159–165. <https://doi.org/10.1007/s00406-012-0327-6>
- Barnham, K.J., Masters, C.L., Bush, A.I., 2004. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat. Rev. Drug Discov.* 3, 205–214. <https://doi.org/10.1038/nrd1330>
- Bathina, S., Das, U.N., 2015. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Arch. Med. Sci.* 6, 1164–1178. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.56342>
- Bauer, M., Pfennig, A., 2005. Epidemiology of Bipolar Disorders: EPIDEMIOLOGY OF BIPOLAR DISORDERS. *Epilepsia* 46, 8–13. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.463003.x>
- Bedse, G., Bluett, R.J., Patrick, T.A., Romness, N.K., Gaulden, A.D., Kingsley, P.J., Plath, N., Marnett, L.J., Patel, S., 2018. Therapeutic endocannabinoid augmentation for mood and anxiety disorders: comparative profiling of FAAH, MAGL and dual inhibitors. *Transl. Psychiatry* 8, 92. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0141-7>
- Benedetti, F., Aggio, V., Pratesi, M.L., Greco, G., Furlan, R., 2020. Neuroinflammation in Bipolar Depression. *Front. Psychiatry* 11, 71. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00071>
- Betteridge, D.J., 2000. What is oxidative stress? *Metabolism* 49, 3–8. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)
- Biernacki, M., Baranowska-Kuczko, M., Niklińska, G.N., Skrzydlewska, E., 2020. The FAAH Inhibitor URB597 Modulates Lipid Mediators in the Brain of Rats with Spontaneous Hypertension. *Biomolecules* 10, 1022. <https://doi.org/10.3390/biom10071022>
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O., 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ. J.* 5, 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Blumberg, H.P., Stern, E., Martinez, D., Ricketts, S., de Asis, J., White, T., Epstein, J., McBride, P.A., Eidelberg, D., Kocsis, J.H., Silbersweig, D.A., 2000. Increased Anterior Cingulate and Caudate Activity in Bipolar Mania. *BIOL PSYCHIATRY* 8.
- Bonaccorso, S., Ricciardi, A., Zangani, C., Chiappini, S., Schifano, F., 2019. Cannabidiol (CBD) use in psychiatric disorders: A systematic review. *NeuroToxicology* 74, 282–298. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.08.002>

- Borges, R., Batista, J., Viana, R., Baetas, A., Orestes, E., Andrade, M., Honório, K., da Silva, A., 2013. Understanding the Molecular Aspects of Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol as Antioxidants. *Molecules* 18, 12663–12674. <https://doi.org/10.3390/molecules181012663>
- Bortolato, M., Mangieri, R.A., Fu, J., Kim, J.H., Arguello, O., Duranti, A., Tontini, A., Mor, M., Tarzia, G., Piomelli, D., 2007. Antidepressant-like Activity of the Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitor URB597 in a Rat Model of Chronic Mild Stress. *Biol. Psychiatry* 62, 1103–1110. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.12.001>
- Bouvier, E., Brouillard, F., Molet, J., Claverie, D., Cabungcal, J.-H., Cresto, N., Doligez, N., Rivat, C., Do, K.Q., Bernard, C., Benoliel, J.-J., Becker, C., 2017. Nrf2-dependent persistent oxidative stress results in stress-induced vulnerability to depression. *Mol. Psychiatry* 22, 1701–1713. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.144>
- Brietzke, E., Stertz, L., Fernandes, B.S., Kauer-Sant'Anna, M., Mascarenhas, M., Escosteguy Vargas, A., Chies, J.A., Kapczinski, F., 2009. Comparison of cytokine levels in depressed, manic and euthymic patients with bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 116, 214–217. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2008.12.001>
- Bristol, G., Hizo, G.H., Pinto, J.V., Santana da Rosa, G., Valiati, F.E., de Moura Silveira Júnior, É., Vianna Sulzbach, M.F., Mendes Ceresér, K.M., Alexandre de Souza Crippa, J., Kauer-Sant'Anna, M., 2021. Augmentation in NF- κ B, NRF2 and FAAH Gene Expression in Bipolar Depression. *Biol. Psychiatry* 89, S229. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2021.02.578>
- Calkin, C.V., Gardner, D.M., Ransom, T., Alda, M., 2013. The relationship between bipolar disorder and type 2 diabetes: More than just co-morbid disorders. *Ann. Med.* 45, 171–181. <https://doi.org/10.3109/07853890.2012.687835>
- Carrà, G., Bartoli, F., Crocamo, C., Brady, K.T., Clerici, M., 2014. Attempted suicide in people with co-occurring bipolar and substance use disorders: Systematic review and meta-analysis. *J. Affect. Disord.* 167, 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.05.066>
- Casarett, D.J., Beliveau, J.N., Arbus, M.S., 2019. Benefit of Tetrahydrocannabinol versus Cannabidiol for Common Palliative Care Symptoms. *J. Palliat. Med.* 22, 1180–1184. <https://doi.org/10.1089/jpm.2018.0658>
- Cassano, T., Calcagnini, S., Pace, L., De Marco, F., Romano, A., Gaetani, S., 2017. Cannabinoid Receptor 2 Signaling in Neurodegenerative Disorders: From Pathogenesis to a Promising Therapeutic Target. *Front. Neurosci.* 11. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00030>
- Cejas, P., Casado, E., Belda-Iniesta, C., Castro, J.D., Espinosa, E., Redondo, A., Sereno, M., García-Cabezas, M.Á., Vara, J.A.F., Domínguez-Cáceres, A., Perona, R., González-Barón, M., 2007. Implications of Oxidative Stress and Cell Membrane Lipid Peroxidation in Human Cancer (Spain). *Cancer Causes Control* 15, 707–719. <https://doi.org/10.1023/B:CACO.0000036189.61607.52>
- Chatterton, M., Ke, X., Lewis, B., Rajagopalan, K., Lazarus, A., 2007. Impact of Bipolar Disorder on the Family 8.

- Clay, H.B., Sullivan, S., Konradi, C., 2011. Mitochondrial dysfunction and pathology in bipolar disorder and schizophrenia. *Int. J. Dev. Neurosci.* 29, 311–324. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2010.08.007>
- Collet, J.-F., Messens, J., 2010. Structure, Function, and Mechanism of Thioredoxin Proteins. *Antioxid. Redox Signal.* 13, 1205–1216. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3114>
- Comelli, F., Giagnoni, G., Bettoni, I., Colleoni, M., Costa, B., 2007. The inhibition of monoacylglycerol lipase by URB602 showed an anti-inflammatory and anti-nociceptive effect in a murine model of acute inflammation: MAGL inhibition against inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 152, 787–794. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707425>
- Condie, R., Herring, A., Koh, W.S., Lee, M., Kaminski, N.E., 1996. Cannabinoid Inhibition of Adenylate Cyclase-mediated Signal Transduction and Interleukin 2 (IL-2) Expression in the Murine T-cell Line, EL4.IL-2. *J. Biol. Chem.* 271, 13175–13183. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.22.13175>
- Coryell, W., Scheftner, W., Keller, M., Endicott, J., Maser, J., Klerman, G., 1993. The enduring psychosocial consequences of mania and depression. *Am. J. Psychiatry* 150, 720–727. <https://doi.org/10.1176/ajp.150.5.720>
- Cravatt, B.F., Giang, D.K., Mayfield, S.P., Boger, D.L., Lerner, R.A., Gilula, N.B., 1996. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature* 384, 83–87. <https://doi.org/10.1038/384083a0>
- Cuadrado, A., Martín-Moldes, Z., Ye, J., Lastres-Becker, I., 2014. Transcription Factors NRF2 and NF- κ B Are Coordinated Effectors of the Rho Family, GTP-binding Protein RAC1 during Inflammation. *J. Biol. Chem.* 289, 15244–15258. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.540633>
- Davies, C., Bhattacharyya, S., 2019. Cannabidiol as a potential treatment for psychosis. *Ther. Adv. Psychopharmacol.* 9, 204512531988191. <https://doi.org/10.1177/2045125319881916>
- Dell’Aglia Jr., J.C., Basso, L.A., Argimon, I.I. de L., Arteche, A., 2013. Systematic review of the prevalence of bipolar disorder and bipolar spectrum disorders in population-based studies. *Trends Psychiatry Psychother.* 35, 99–105. <https://doi.org/10.1590/S2237-60892013000200002>
- Devane, W.A., Dysarz, F.A., Johnson, M.R., Melvin, L.S., Howlett, A.C., 1988. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol. Pharmacol.* 34, 605–613.
- Devane, W.A., Hanuš, L., Breuer, A., Pertwee, R.G., Stevenson, L.A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., Mechoulam, R., 1992. Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. *Science* 258, 1946–1949. <https://doi.org/10.1126/science.1470919>
- Deveaux, V., Cadoudal, T., Ichigotani, Y., Teixeira-Clerc, F., Louvet, A., Manin, S., Nhieu, J.T.-V., Belot, M.P., Zimmer, A., Even, P., Cani, P.D., Knauf, C., Burcelin, R., Bertola, A., Le Marchand-Brustel, Y., Gual, P., Mallat, A., Lotersztajn, S., 2009. Cannabinoid CB2 Receptor Potentiates Obesity-Associated Inflammation, Insulin Resistance and Hepatic Steatosis. *PLoS ONE* 4, e5844. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005844>

- Difflorio, A., Jones, I., 2010. Is sex important? Gender differences in bipolar disorder. *Int. Rev. Psychiatry* 22, 437–452. <https://doi.org/10.3109/09540261.2010.514601>
- Du, H., Chen, X., Zhang, J., Chen, C., 2011. Inhibition of COX-2 expression by endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol is mediated via PPAR- γ : PPAR γ in 2-AG suppression of COX-2. *Br. J. Pharmacol.* 163, 1533–1549. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01444.x>
- Duffy, A., Goodday, S.M., Keown-Stoneman, C., Scotti, M., Maitra, M., Nagy, C., Horrocks, J., Turecki, G., 2019. Epigenetic markers in inflammation-related genes associated with mood disorder: a cross-sectional and longitudinal study in high-risk offspring of bipolar parents. *Int. J. Bipolar Disord.* 7, 17. <https://doi.org/10.1186/s40345-019-0152-1>
- Edvardsen, J., Torgersen, S., Røysamb, E., Lygren, S., Skre, I., Onstad, S., Øien, P.A., 2008. Heritability of bipolar spectrum disorders. Unity or heterogeneity? *J. Affect. Disord.* 106, 229–240. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2007.07.001>
- Eid, L., Heim, K., Doucette, S., McCloskey, S., Duffy, A., Grof, P., 2013. Bipolar disorder and socioeconomic status: what is the nature of this relationship? *Int. J. Bipolar Disord.* 1, 9. <https://doi.org/10.1186/2194-7511-1-9>
- Elhaik, E., Zandi, P., 2015. Dysregulation of the NF- κ B pathway as a potential inducer of bipolar disorder. *J. Psychiatr. Res.* 70, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.08.009>
- Eljaschewitsch, E., Witting, A., Mawrin, C., Lee, T., Schmidt, P.M., Wolf, S., Hoertnagl, H., Raine, C.S., Schneider-Stock, R., Nitsch, R., Ullrich, O., 2006. The Endocannabinoid Anandamide Protects Neurons during CNS Inflammation by Induction of MKP-1 in Microglial Cells. *Neuron* 49, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.11.027>
- Esposito, G., De Filippis, D., Maiuri, M.C., De Stefano, D., Carnuccio, R., Iuvone, T., 2006. Cannabidiol inhibits inducible nitric oxide synthase protein expression and nitric oxide production in β -amyloid stimulated PC12 neurons through p38 MAP kinase and NF- κ B involvement. *Neurosci. Lett.* 399, 91–95. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.01.047>
- Fernandes, B.S., Molendijk, M.L., Köhler, C.A., Soares, J.C., Leite, C.M.G.S., Machado-Vieira, R., Ribeiro, T.L., Silva, J.C., Sales, P.M.G., Quevedo, J., Oertel-Knöchel, V., Vieta, E., González-Pinto, A., Berk, M., Carvalho, A.F., 2015. Peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a biomarker in bipolar disorder: a meta-analysis of 52 studies. *BMC Med.* 13, 289. <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0529-7>
- Ferretjans, R., Moreira, F.A., Teixeira, A.L., Salgado, J.V., 2012. The Endocannabinoid System and its Role in Schizophrenia: A Systematic Review of the Literature. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 34, 163–193. <https://doi.org/10.1016/j.rbp.2012.07.003>
- Franklin, C.C., Backos, D.S., Mohar, I., White, C.C., Forman, H.J., Kavanagh, T.J., 2009. Structure, function, and post-translational regulation of the catalytic and modifier subunits of glutamate cysteine ligase. *Mol. Aspects Med.* 30, 86–98. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.009>

- Fries, G.R., Vasconcelos-Moreno, M.P., Gubert, C., Santos, B.T.M.Q. d., Sartori, J., Eisele, B., Ferrari, P., Fijtman, A., Ruegg, J., Gassen, N.C., Kapczinski, F., Rein, T., Kauer-Sant'Anna, M., 2015. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Dysfunction and Illness Progression in Bipolar Disorder. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 18, pyu043–pyu043. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu043>
- Gaoni, Y., Mechoulam, R., 1964. Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J. Am. Chem. Soc.* 86, 1646–1647. <https://doi.org/10.1021/ja01062a046>
- Giacoppo, S., Pollastro, F., Grassi, G., Bramanti, P., Mazzon, E., 2017. Target regulation of PI3K/Akt/mTOR pathway by cannabidiol in treatment of experimental multiple sclerosis. *Fitoterapia* 116, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.11.010>
- Gigante, A.D., Bond, D.J., Lafer, B., Lam, R.W., Young, L.T., Yatham, L.N., 2012. Brain glutamate levels measured by magnetic resonance spectroscopy in patients with bipolar disorder: a meta-analysis: MRS glutamate levels in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 14, 478–487. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2012.01033.x>
- Gitlin, M., 2016. Lithium side effects and toxicity: prevalence and management strategies. *Int. J. Bipolar Disord.* 4, 27. <https://doi.org/10.1186/s40345-016-0068-y>
- Giurgiuca, A., 2017. Cortisol Levels and Suicide in Bipolar I Disorder. *Acta Endocrinol. Buchar.* 13, 188–194. <https://doi.org/10.4183/aeb.2017.188>
- Glezer, I., Marcourakis, T., Avellar, M.C.W., Gorenstein, C., Scavone, C., 2000. O fator de transcrição NF-kapaB nos mecanismos moleculares de ação de psicofármacos. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 22, 26–30. <https://doi.org/10.1590/S1516-44462000000100008>
- Gonda, X., Pompili, M., Serafini, G., Montebovi, F., Campi, S., Dome, P., Duleba, T., Girardi, P., Rihmer, Z., 2012. Suicidal behavior in bipolar disorder: Epidemiology, characteristics and major risk factors. *J. Affect. Disord.* 143, 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2012.04.041>
- Grande, I., Berk, M., Birmaher, B., Vieta, E., 2016. Bipolar disorder. *The Lancet* 387, 1561–1572. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00241-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00241-X)
- Grande, I., Fries, G.R., Kunz, M., Kapczinski, F., 2010. The Role of BDNF as a Mediator of Neuroplasticity in Bipolar Disorder. *Psychiatry Investig.* 7, 243. <https://doi.org/10.4306/pi.2010.7.4.243>
- Hahn, G.F., Oliveira, J.R. de, Bock, P.M., 2017. O papel do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) no diabetes mellitus. *Clin. Biomed. Res.* 37, 203–213. <https://doi.org/10.4322/2357-9730.73884>
- Han, K.H., Lim, S., Ryu, J., Lee, C.-W., Kim, Y., Kang, J.-H., Kang, S.-S., Ahn, Y.K., Park, C.-S., Kim, J.J., 2009. CB1 and CB2 cannabinoid receptors differentially regulate the production of reactive oxygen species by macrophages. *Cardiovasc. Res.* 84, 378–386. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp240>

- Hashimoto, K., 2018. Essential Role of Keap1-Nrf2 Signaling in Mood Disorders: Overview and Future Perspective. *Front. Pharmacol.* 9, 1182. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01182>
- Heyman, E., Gamelin, F.-X., Goekint, M., Piscitelli, F., Roelands, B., Leclair, E., Di Marzo, V., Meeusen, R., 2012. Intense exercise increases circulating endocannabinoid and BDNF levels in humans—Possible implications for reward and depression. *Psychoneuroendocrinology* 37, 844–851. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.09.017>
- Hilty, D.M., Leamon, M.H., Lim, R.F., Kelly, R.H., Hales, R.E., 2006. A review of bipolar disorder in adults. *Psychiatry Edgmont Pa Townsh.* 3, 43–55.
- Howlett, A.C., 2005. Cannabinoid Receptor Signaling, in: Pertwee, R.G. (Ed.), *Cannabinoids, Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, pp. 53–79. https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2_2
- Hu, L., Yang, Y., Jiang, L., Liu, S., 2016. The catalase gene family in cucumber: genome-wide identification and organization. *Genet. Mol. Biol.* 39, 408–415. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0192>
- Huang, W.-J., Chen, W.-W., Zhang, X., 2016. Endocannabinoid system: Role in depression, reward and pain control (Review). *Mol. Med. Rep.* 14, 2899–2903. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5585>
- Hwang, Y.S., Kim, Y.-J., Kim, M.O., Kang, M., Oh, S.W., Nho, Y.H., Park, S.-H., Lee, J., 2017. Cannabidiol upregulates melanogenesis through CB1 dependent pathway by activating p38 MAPK and p42/44 MAPK. *Chem. Biol. Interact.* 273, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.005>
- Jean-Gilles, L., Braitch, M., Latif, M.L., Aram, J., Fahey, A.J., Edwards, L.J., Robins, R.A., Tanasescu, R., Tighe, P.J., Gran, B., Showe, L.C., Alexander, S.P., Chapman, V., Kendall, D.A., Constantinescu, C.S., 2015. Effects of pro-inflammatory cytokines on cannabinoid CB₁ and CB₂ receptors in immune cells. *Acta Physiol.* 214, 63–74. <https://doi.org/10.1111/apha.12474>
- Jochim, J., Rifkin-Zybutz, R.P., Geddes, J., Cipriani, A., 2019. Valproate for acute mania. *Cochrane Database Syst. Rev.* <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004052.pub2>
- Johnson, J.G., Cohen, P., Brook, J.S., 2000. Associations Between Bipolar Disorder and Other Psychiatric Disorders During Adolescence and Early Adulthood: A Community-Based Longitudinal Investigation. *Am. J. Psychiatry* 157, 1679–1681. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.10.1679>
- Jones, P.G., Falvello, L., Kennard, O., Sheldrick, G.M., Mechoulam, R., 1977. Cannabidiol. *Acta Crystallogr. B* 33, 3211–3214. <https://doi.org/10.1107/S0567740877010577>
- Kapczinski, F., Quevedo, J., 2015. Transtorno Bipolar: TEORIA E CLÍNICA. *Artmed*.
- Karin, M., 1999. How NF- κ B is activated: the role of the I κ B kinase (IKK) complex 8.

- Karlsson, M., Contreras, J.A., Hellman, U., Tornqvist, H., Holm, C., 1997. cDNA Cloning, Tissue Distribution, and Identification of the Catalytic Triad of Monoglyceride Lipase. *J. Biol. Chem.* 272, 27218–27223. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.43.27218>
- Khairova, R., Pawar, R., Salvadore, G., Juruena, M., Sousa, R., Soeiro-de-sousa, M., Salvador, M., Zarate, C., Gattaz, W., Machado-Vieira, R., 2011. Effects of lithium on oxidative stress parameters in healthy subjects. *Mol. Med. Rep.* <https://doi.org/10.3892/mmr.2011.732>
- Khan, R., Naveed, S., Mian, N., Fida, A., Raafey, M.A., Aedma, K.K., 2020. The therapeutic role of Cannabidiol in mental health: a systematic review. *J. Cannabis Res.* 2, 2. <https://doi.org/10.1186/s42238-019-0012-y>
- Kirkham, T.C., 2005. Endocannabinoids in the regulation of appetite and body weight: *Behav. Pharmacol.* 16, 297–313. <https://doi.org/10.1097/00008877-200509000-00004>
- Kozela, E., Pietr, M., Juknat, A., Rimmerman, N., Levy, R., Vogel, Z., 2010. Cannabinoids Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol Differentially Inhibit the Lipopolysaccharide-activated NF- κ B and Interferon- β /STAT Proinflammatory Pathways in BV-2 Microglial Cells. *J. Biol. Chem.* 285, 1616–1626. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.069294>
- Kruk-Slomka, M., Dzik, A., Budzynska, B., Biala, G., 2017. Endocannabinoid System: the Direct and Indirect Involvement in the Memory and Learning Processes—a Short Review. *Mol. Neurobiol.* 54, 8332–8347. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0313-5>
- Kunz, M., Ceresér, K.M., Goi, P.D., Fries, G.R., Teixeira, L., Fernandes, B.S., Belmonte-de-Abreu, P.S., Kauer-Sant’Anna, M., Kapczinski, F., Gama, C.S., 2011. Serum levels of IL-6, IL-10 and TNF- α in patients with bipolar disorder and schizophrenia: differences in pro- and anti-inflammatory balance 7.
- Kunz, M., Gama, C.S., Andreazza, A.C., Salvador, M., Ceresér, K.M., Gomes, F.A., Belmonte-de-Abreu, P.S., Berk, M., Kapczinski, F., 2008. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 32, 1677–1681. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.07.001>
- Lafaye, G., Karila, L., Blecha, L., Benyamina, A., 2017. Cannabis, cannabinoids, and health. *Dialogues Clin. Neurosci.* 19, 9.
- Lambert, A.J., Brand, M.D., 2009. Reactive Oxygen Species Production by Mitochondria, in: Stuart, J.A. (Ed.), *Mitochondrial DNA, Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 165–181. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-521-3_11
- Laprairie, R.B., Bagher, A.M., Kelly, M.E.M., Denovan-Wright, E.M., 2015. Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid CB₁ receptor: Negative allosteric modulation of CB₁ by cannabidiol. *Br. J. Pharmacol.* 172, 4790–4805. <https://doi.org/10.1111/bph.13250>

- Lau, B.K., Drew, G.M., Mitchell, V.A., Vaughan, C.W., 2014. Endocannabinoid modulation by FAAH and monoacylglycerol lipase within the analgesic circuitry of the periaqueductal grey: Endocannabinoid modulation of pain within the PAG. *Br. J. Pharmacol.* 171, 5225–5236. <https://doi.org/10.1111/bph.12839>
- Lee, K.-S., Park, Y.-M., Lee, S.-H., 2012. Serotonergic Dysfunction in Patients with Bipolar Disorder Assessed by the Loudness Dependence of the Auditory Evoked Potential. *Psychiatry Investig.* 9, 298. <https://doi.org/10.4306/pi.2012.9.3.298>
- Li, H., Wood, J.T., Whitten, K.M., Vadivel, S.K., Seng, S., Makriyannis, A., Avraham, H.K., 2013. Inhibition of fatty acid amide hydrolase activates Nrf2 signalling and induces heme oxygenase 1 transcription in breast cancer cells: Role of FAAH and AEA in Nrf2 signalling. *Br. J. Pharmacol.* 170, 489–505. <https://doi.org/10.1111/bph.12111>
- Lichtman, A.H., Varvel, S.A., Martin, B.R., 2002. Endocannabinoids in cognition and dependence. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids PLEFA* 66, 269–285. <https://doi.org/10.1054/plef.2001.0351>
- Liu, J., Bátkai, S., Pacher, P., Harvey-White, J., Wagner, J.A., Cravatt, B.F., Gao, B., Kunos, G., 2003. Lipopolysaccharide Induces Anandamide Synthesis in Macrophages via CD14/MAPK/Phosphoinositide 3-Kinase/NF- κ B Independently of Platelet-activating Factor. *J. Biol. Chem.* 278, 45034–45039. <https://doi.org/10.1074/jbc.M306062200>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., Sun, S.-C., 2017. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2, 17023. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Loboda, A., Damulewicz, M., Pyza, E., Jozkowicz, A., Dulak, J., 2016. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism. *Cell. Mol. Life Sci.* 73, 3221–3247. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2223-0>
- López-Muñoz, F., Shen, W., D’Ocon, P., Romero, A., Álamo, C., 2018. A History of the Pharmacological Treatment of Bipolar Disorder. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 2143. <https://doi.org/10.3390/ijms19072143>
- Lu, H.-C., Mackie, K., 2016. An Introduction to the Endogenous Cannabinoid System. *Biol. Psychiatry* 79, 516–525. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.028>
- Lutz, B., 2004. On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. *Biochem. Pharmacol.* 68, 1691–1698. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.07.007>
- Maccarrone, M., 2017. Metabolism of the Endocannabinoid Anandamide: Open Questions after 25 Years. *Front. Mol. Neurosci.* 10, 166. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00166>
- Maccarrone, M., 2002. Low fatty acid amide hydrolase and high anandamide levels are associated with failure to achieve an ongoing pregnancy after IVF and embryo transfer. *Mol. Hum. Reprod.* 8, 188–195. <https://doi.org/10.1093/molehr/8.2.188>

- Mahmood, T., Silverstone, T., 2001. Serotonin and bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 66, 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(00\)00226-3](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(00)00226-3)
- Manji, H.K., Quiroz, J.A., Payne, J.L., Singh, J., Lopes, B.P., Viegas, J.S., Zarate, C.A., 2003. The underlying neurobiology of bipolar disorder. *World Psychiatry* 11.
- Manzanas, J., Julian, M., Carrascosa, A., 2006. Role of the Cannabinoid System in Pain Control and Therapeutic Implications for the Management of Acute and Chronic Pain Episodes. *Curr. Neuropharmacol.* 4, 239–257. <https://doi.org/10.2174/157015906778019527>
- Marsicano, G., Lafenêtre, P., 2009. Roles of the Endocannabinoid System in Learning and Memory, in: Kendall, D., Alexander, S. (Eds.), *Behavioral Neurobiology of the Endocannabinoid System, Current Topics in Behavioral Neurosciences*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 201–230. https://doi.org/10.1007/978-3-540-88955-7_8
- Marzo, V.D., Bifulco, M., Petrocellis, L.D., 2004. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat. Rev. Drug Discov.* 3, 771–784. <https://doi.org/10.1038/nrd1495>
- Matsumoto, S., Koshiishi, I., Inoguchi, T., Nawata, H., Utsumi, H., 2003. Confirmation of Superoxide Generation via Xanthine Oxidase in Streptozotocin-induced Diabetic Mice. *Free Radic. Res.* 37, 767–772. <https://doi.org/10.1080/1071576031000107344>
- McGuffin, P., Rijdsdijk, F., Andrew, M., Sham, P., Katz, R., Cardno, A., 2003. The Heritability of Bipolar Affective Disorder and the Genetic Relationship to Unipolar Depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 60, 497. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.60.5.497>
- Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N.E., Schatz, A.R., Gopher, A., Almog, S., Martin, B.R., Compton, D.R., Pertwee, R.G., Griffin, G., Bayewitch, M., Barg, J., Vogel, Z., 1995. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol.* 50, 83–90. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00109-D](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00109-D)
- Merikangas, K.R., He, J., Burstein, M., Swanson, S.A., Avenevoli, S., Cui, L., Benjet, C., Georgiades, K., Swendsen, J., 2010. Lifetime Prevalence of Mental Disorders in U.S. Adolescents: Results from the National Comorbidity Survey Replication–Adolescent Supplement (NCS-A). *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 49, 980–989. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2010.05.017>
- Merikangas, K.R., Pato, M., 2009. Recent developments in the epidemiology of bipolar disorder in adults and children: Magnitude, correlates, and future directions. *Clin. Psychol. Sci. Pract.* 16, 121–133. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2850.2009.01152.x>
- Michalak, E.E., Murray, G., Young, A.H., Lam, R.W., 2008. Burden of Bipolar Depression: Impact of Disorder and Medications on Quality of Life. *CNS Drugs* 22, 389–406. <https://doi.org/10.2165/00023210-200822050-00003>

- Miklowitz, D.J., Portnoff, L.C., Armstrong, C.C., Keenan-Miller, D., Breen, E.C., Muscatell, K.A., Eisenberger, N.I., Irwin, M.R., 2016. Inflammatory cytokines and nuclear factor-kappa B activation in adolescents with bipolar and major depressive disorders. *Psychiatry Res.* 241, 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2016.04.120>
- Miller, C.J., Li, M., Penfold, R.B., Lee, A.F., Smith, E.G., Nordberg, S.S., Osser, D.N., Bajor, L., Zhang, F., Bauer, M.S., 2015. The Ascendancy of Second-Generation Antipsychotics as Frontline Antimanic Agents. *J. Clin. Psychopharmacol.* 35, 645–653. <https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000000405>
- Miller, L.K., Devi, L.A., 2011. The Highs and Lows of Cannabinoid Receptor Expression in Disease: Mechanisms and Their Therapeutic Implications. *Pharmacol. Rev.* 63, 461–470. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003491>
- Minuzzi, L., Behr, G.A., Moreira, J.C.F., Frey, B.N., 2011. Mitochondrial Dysfunction in Bipolar Disorder: Lessons from Brain Imaging and Molecular Markers. *Rev. Colomb. Psiquiatr.* 40, 166S–182S. [https://doi.org/10.1016/S0034-7450\(14\)60201-8](https://doi.org/10.1016/S0034-7450(14)60201-8)
- Modak, T., Kumar, S., Pal, A., Gupta, R., Pattanayak, R.D., Khandelwal, S.K., 2017. Chlorpromazine as Prophylaxis for Bipolar Disorder with Treatment- and Electroconvulsive Therapy-Refractory Mania: Old Horse, New Trick. *Indian J. Psychol. Med.* 39, 539–541. <https://doi.org/10.4103/0253-7176.211759>
- Molvarec, A., Fügedi, G., Szabó, E., Stenczer, B., Walentin, S., Rigó, J., 2015. Decreased circulating anandamide levels in preeclampsia. *Hypertens. Res.* 38, 413–418. <https://doi.org/10.1038/hr.2015.20>
- Mounsey, R.B., Mustafa, S., Robinson, L., Ross, R.A., Riedel, G., Pertwee, R.G., Teismann, P., 2015. Increasing levels of the endocannabinoid 2-AG is neuroprotective in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 273, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.07.024>
- Muneer, A., 2016. Bipolar Disorder: Role of Inflammation and the Development of Disease Biomarkers. *Psychiatry Investig.* 13, 18. <https://doi.org/10.4306/pi.2016.13.1.18>
- Munro, S., Thomas, K.L., Abu-Shaar, M., 1993. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365, 61–65. <https://doi.org/10.1038/365061a0>
- Murataeva, N., Straiker, A., Mackie, K., 2014. Parsing the players: 2-arachidonoylglycerol synthesis and degradation in the CNS: 2-AG synthesis and degradation in the CNS. *Br. J. Pharmacol.* 171, 1379–1391. <https://doi.org/10.1111/bph.12411>
- Namjoshi, M.A., Buesching, D.P., 2001. A review of the health-related quality of life literature in bipolar disorder 11.
- Nasrallah, H.A., Ketter, T.A., Kalali, A.H., 2006. Carbamazepine and valproate for the treatment of bipolar disorder: a review of the literature. *J. Affect. Disord.* 95, 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2006.04.030>

- Nogueiras, R., Diaz-Arteaga, A., Lockie, S.H., Velásquez, D.A., Tschop, J., López, M., Cadwell, C.C., Diéguez, C., Tschöp, M.H., 2009. The endocannabinoid system: Role in glucose and energy metabolism. *Pharmacol. Res.* 60, 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.04.004>
- Nomura, D.K., Morrison, B.E., Blankman, J.L., Long, J.Z., Kinsey, S.G., Marcondes, M.C.G., Ward, A.M., Hahn, Y.K., Lichtman, A.H., Conti, B., Cravatt, B.F., 2011. Endocannabinoid Hydrolysis Generates Brain Prostaglandins That Promote Neuroinflammation. *Science* 334, 809–813. <https://doi.org/10.1126/science.1209200>
- Novis, F., Cirillo, P., Silva, R.A. da, Santos, A.L., Silveira, L.A.S., Cardoso, A., Coscarelli, P., Nardi, A.E., Cheniaux, E., 2014. The progression of 102 Brazilian patients with bipolar disorder: outcome of first 12 months of prospective follow-up. *Trends Psychiatry Psychother.* 36, 16–22. <https://doi.org/10.1590/2237-6089-2012-0048>
- Oberbarnscheidt, T., Miller, N.S., 2020. The Impact of Cannabidiol on Psychiatric and Medical Conditions. *J. Clin. Med. Res.* 12, 393–403. <https://doi.org/10.14740/jocmr4159>
- Oguntibeju, O.O., 2019. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* 11, 45–63.
- O’Sullivan, S.E., 2016. An update on PPAR activation by cannabinoids: Cannabinoids and PPARs. *Br. J. Pharmacol.* 173, 1899–1910. <https://doi.org/10.1111/bph.13497>
- Palsamy, P., Bidasee, K.R., Shinohara, T., 2014. Valproic acid suppresses Nrf2/Keap1 dependent antioxidant protection through induction of endoplasmic reticulum stress and Keap1 promoter DNA demethylation in human lens epithelial cells. *Exp. Eye Res.* 121, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2014.01.021>
- Pandey, R., Mousawy, K., Nagarkatti, M., Nagarkatti, P., 2009. Endocannabinoids and immune regulation ☆. *Pharmacol. Res.* 60, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.03.019>
- Panikashvili, D., Mechoulam, R., Beni, S.M., Alexandrovich, A., Shohami, E., 2005. CB₁ cannabinoid receptors are involved in neuroprotection via NF-κB inhibition. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 25, 477–484. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600047>
- Parker, G.B., 2010. Comorbidities in bipolar disorder: models and management. *Med. J. Aust.* 193. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.2010.tb03892.x>
- Pertwee, R., 2008. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: D9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and D9-tetrahydrocannabivarin. *Br. J. Pharmacol.* 17.
- Pompili, M., 2008. Suicide risk in depression and bipolar disorder: Do impulsiveness-aggressiveness and pharmacotherapy predict suicidal intent? *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 247. <https://doi.org/10.2147/NDT.S2192>

- Pretzsch, C.M., Freyberg, J., Voinescu, B., Lythgoe, D., Horder, J., Mendez, M.A., Wichers, R., Ajram, L., Ivin, G., Heasman, M., Edden, R.A.E., Williams, S., Murphy, D.G.M., Daly, E., McAlonan, G.M., 2019. Effects of cannabidiol on brain excitation and inhibition systems; a randomised placebo-controlled single dose trial during magnetic resonance spectroscopy in adults with and without autism spectrum disorder. *Neuropsychopharmacology* 44, 1398–1405. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0333-8>
- Rege, S., Hodgkinson, S.J., 2013. Immune dysregulation and autoimmunity in bipolar disorder: Synthesis of the evidence and its clinical application. *Aust. N. Z. J. Psychiatry* 47, 1136–1151. <https://doi.org/10.1177/0004867413499077>
- Reggio, P., 2010. Endocannabinoid Binding to the Cannabinoid Receptors: What Is Known and What Remains Unknown. *Curr. Med. Chem.* 17, 1468–1486. <https://doi.org/10.2174/092986710790980005>
- Ross, H.R., Napier, I., Connor, M., 2008. Inhibition of Recombinant Human T-type Calcium Channels by Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol. *J. Biol. Chem.* 283, 16124–16134. <https://doi.org/10.1074/jbc.M707104200>
- Rowland, T.A., Marwaha, S., 2018. Epidemiology and risk factors for bipolar disorder. *Ther. Adv. Psychopharmacol.* 8, 251–269. <https://doi.org/10.1177/2045125318769235>
- Salim, S., 2014. Oxidative Stress and Psychological Disorders. *Curr. Neuropharmacol.* 12, 140–147. <https://doi.org/10.2174/1570159X11666131120230309>
- Sancho, R., Calzado, M.A., Marzo, V.D., Appendino, G., Oz, E.M., 2002. Anandamide Inhibits Nuclear Factor- κ B Activation through a Cannabinoid Receptor-Independent Pathway 10.
- Sax, K.W., Strakowski, S.M., Zimmerman, M.E., DelBello, M.P., Keck, P.E., Hawkins, J.M., 1999. Frontosubcortical Neuroanatomy and the Continuous Performance Test in Mania. *Am. J. Psychiatry* 156, 139–141. <https://doi.org/10.1176/ajp.156.1.139>
- Scaini, G., Valvassori, S.S., Diaz, A.P., Lima, C.N., Benevenuto, D., Fries, G.R., Quevedo, J., 2020. Neurobiology of bipolar disorders: a review of genetic components, signaling pathways, biochemical changes, and neuroimaging findings. *Braz. J. Psychiatry* 42, 536–551. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2019-0732>
- Schaffer, A., Cairney, J., Cheung, A., Veldhuizen, S., Levitt, A., 2006. Community Survey of Bipolar Disorder in Canada: Lifetime Prevalence and Illness Characteristics. *Can. J. Psychiatry* 51, 9–16. <https://doi.org/10.1177/070674370605100104>
- Schmidt, M.E., Liebowitz, M.R., Stein, M.B., Grunfeld, J., Van Hove, I., Simmons, W.K., Van Der Ark, P., Palmer, J.A., Saad, Z.S., Pemberton, D.J., Van Nueten, L., Drevets, W.C., 2021. The effects of inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH) by JNJ-42165279 in social anxiety disorder: a double-blind, randomized, placebo-controlled proof-of-concept study. *Neuropsychopharmacology* 46, 1004–1010. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-00888-1>

- Semahegn, A., Torpey, K., Manu, A., Assefa, N., Tesfaye, G., Ankomah, A., 2020. Psychotropic medication non-adherence and its associated factors among patients with major psychiatric disorders: a systematic review and meta-analysis. *Syst. Rev.* 9, 17. <https://doi.org/10.1186/s13643-020-1274-3>
- Shields, H.J., Traa, A., Van Raamsdonk, J.M., 2021. Beneficial and Detrimental Effects of Reactive Oxygen Species on Lifespan: A Comprehensive Review of Comparative and Experimental Studies. *Front. Cell Dev. Biol.* 9, 628157. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.628157>
- Smaga, I., Bystrowska, B., Gawliński, D., Pomierny, B., Stankowicz, P., Filip, M., 2014. Antidepressants and Changes in Concentration of Endocannabinoids and N-Acylethanolamines in Rat Brain Structures. *Neurotox. Res.* 26, 190–206. <https://doi.org/10.1007/s12640-014-9465-0>
- Sroykham, W., Wongsawat, Y., 2019. Effects of brain activity, morning salivary cortisol, and emotion regulation on cognitive impairment in elderly people. *Medicine (Baltimore)* 98, e16114. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016114>
- Stampanoni Bassi, M., Gilio, L., Maffei, P., Dolcetti, E., Bruno, A., Buttari, F., Centonze, D., Iezzi, E., 2018. Exploiting the Multifaceted Effects of Cannabinoids on Mood to Boost Their Therapeutic Use Against Anxiety and Depression. *Front. Mol. Neurosci.* 11, 424. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00424>
- Stella, N., Schweitzer, P., Piomelli, D., 1997. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 388, 773–778. <https://doi.org/10.1038/42015>
- Stertz, L., Magalhães, P.V.S., Kapczinski, F., 2013. Is bipolar disorder an inflammatory condition? The relevance of microglial activation: *Curr. Opin. Psychiatry* 26, 19–26. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e32835aa4b4>
- Studart, P.M., Bezerra Filho, S., Studart, A.B.D., Almeida, A.G., Miranda-Scippa, Â., 2015. Social support and bipolar disorder. *Arch. Clin. Psychiatry São Paulo* 42, 95–99. <https://doi.org/10.1590/0101-608300000000057>
- Sunda, F., Arowolo, A., 2020. A molecular basis for the anti-inflammatory and anti-fibrosis properties of cannabidiol. *FASEB J.* 34, 14083–14092. <https://doi.org/10.1096/fj.202000975R>
- Suttajit, S., Srisurapanont, M., Maneeton, N., Maneeton, B., 2014. Quetiapine for acute bipolar depression: a systematic review and meta-analysis. *Drug Des. Devel. Ther.* 827. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S63779>
- Thase, M.E., Harrington, A., Calabrese, J., Montgomery, S., Niu, X., Patel, M.D., 2021. Evaluation of MADRS severity thresholds in patients with bipolar depression. *J. Affect. Disord.* 286, 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2021.02.043>
- Tondo, L., Alda, M., Bauer, M., Bergink, V., Grof, P., Hajek, T., Lewitka, U., Licht, R.W., Manchia, M., Müller-Oerlinghausen, B., Nielsen, R.E., Selo, M., Simhandl, C., Baldessarini, R.J., 2019. Clinical use of lithium salts: guide for users and prescribers. *Int J Bipolar Disord* 7, 16. <https://doi.org/10.1186/s40345-019-0151-2>

- Townsend, D.M., Tew, K.D., 2003. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 22, 7369–7375. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206940>
- Tully, A., Murphy, E., Smyth, S., Conway, Y., Geddes, J., Devane, D., Kelly, J.P., Jordan, F., 2018. Interventions for the management of obesity in people with bipolar disorder. *Cochrane Database Syst. Rev.* <https://doi.org/10.1002/14651858.CD013006>
- Turcotte, C., Blanchet, M.-R., Lavolette, M., Flamand, N., 2016. The CB2 receptor and its role as a regulator of inflammation. *Cell. Mol. Life Sci.* 73, 4449–4470. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2300-4>
- Turcotte, C., Chouinard, F., Lefebvre, J.S., Flamand, N., 2015. Regulation of inflammation by cannabinoids, the endocannabinoids 2-arachidonoyl-glycerol and arachidonoyl-ethanolamide, and their metabolites. *J. Leukoc. Biol.* 97, 1049–1070. <https://doi.org/10.1189/jlb.3RU0115-021R>
- Ueda, N., Tsuboi, K., Uyama, T., Ohnishi, T., 2011. Biosynthesis and degradation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *BioFactors* 37, 1–7. <https://doi.org/10.1002/biof.131>
- Valk, P.J.M., Delwel, R., 1998. The Peripheral Cannabinoid Receptor, Cb2, in Retrovirally-Induced Leukemic Transformation and Normal Hematopoiesis. *Leuk. Lymphoma* 32, 29–43. <https://doi.org/10.3109/10428199809059244>
- van Enkhuizen, J., Janowsky, D.S., Olivier, B., Minassian, A., Perry, W., Young, J.W., Geyer, M.A., 2015. The catecholaminergic–cholinergic balance hypothesis of bipolar disorder revisited. *Eur. J. Pharmacol.* 753, 114–126. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.05.063>
- Vandeleur, C., Rothen, S., Gholam-Rezaee, M., Castela, E., Vidal, S., Favre, S., Ferrero, F., Halfon, O., Fumeaux, P., Merikangas, K.R., Aubry, J.-M., Burstein, M., Preisig, M., 2012. Mental disorders in offspring of parents with bipolar and major depressive disorders: Offspring of parents with mood disorders. *Bipolar Disord.* 14, 641–653. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2012.01048.x>
- Vieta, E., Berk, M., Schulze, T.G., Carvalho, A.F., Suppes, T., Calabrese, J.R., Gao, K., Miskowiak, K.W., Grande, I., 2018. Bipolar disorders. *Nat. Rev. Dis. Primer* 4, 18008. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.8>
- Wageck, A.R., Torres, F.S., Gama, C.S., Martins, D.S., Scotton, E., Reckziegel, R., Costanzi, M., Rosa, R.G., Kapczinski, F., Kunz, M., 2017. Cardiovascular risk and bipolar disorder: factors associated with a positive coronary calcium score in patients with bipolar disorder type 1. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 40, 163–168. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2017-2253>
- Walid, M.S., Zaytseva, N.V., 2011. Which Neuropsychiatric Disorder Is More Associated With Divorce? *J. Divorce Remarriage* 52, 220–224. <https://doi.org/10.1080/10502556.2011.556976>
- Wardyn, J.D., Ponsford, A.H., Sanderson, C.M., 2015. Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF-κB response pathways. *Biochem. Soc. Trans.* 43, 621–626. <https://doi.org/10.1042/BST20150014>

- Wei, R., Enaka, M., Muragaki, Y., 2019. Activation of KEAP1/NRF2/P62 signaling alleviates high phosphate-induced calcification of vascular smooth muscle cells by suppressing reactive oxygen species production. *Sci. Rep.* 9, 10366. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46824-2>
- Witkin, J.M., Tzavara, E.T., Nomikos, G.G., 2005. A role for cannabinoid CB1 receptors in mood and anxiety disorders: *Behav. Pharmacol.* 16, 315–331. <https://doi.org/10.1097/00008877-200509000-00005>
- Womersley, K., 2017. Prescription of Sodium Valproate as a Mood Stabiliser in Pregnancy. *Psychiatr. Danub.* 29, 679–684.
- Yang, T., Nie, Z., Shu, H., Kuang, Y., Chen, X., Cheng, J., Yu, S., Liu, H., 2020. The Role of BDNF on Neural Plasticity in Depression. *Front. Cell. Neurosci.* 14, 82. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00082>
- Young, L.T., 2007. Is bipolar disorder a mitochondrial disease? 32, 2.
- Younus, H., 2018. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int. J. Health Sci.* 12, 6.
- Zanger, U.M., Schwab, M., 2013. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol. Ther.* 138, 103–141. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.12.007>
- Zhang, J., Hao, H., Wu, X., Wang, Q., Chen, M., Feng, Z., Chen, H., 2020. The functions of glutathione peroxidase in ROS homeostasis and fruiting body development in *Hypsizygus marmoreus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 104, 10555–10570. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10981-6>
- Zhen, Y.-F., Liu, X.-Y., Zhou, D.-H., Du, X., Yin, G., Zhang, Y., Fang, H., Xu, G., Soares, J.C., Zhang, X.Y., 2018. Cognition, serum BDNF levels, and BDNF Val66Met polymorphism in type 2 diabetes patients and healthy controls. *Oncotarget* 9, 3653–3662. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23342>
- Zuardi, A.W., 2008. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 30, 271–280. <https://doi.org/10.1590/S1516-44462008000300015>
- Zuardi, A.W., 2006. History of cannabis as a medicine: a review. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 28, 153–157. <https://doi.org/10.1590/S1516-44462006000200015>

Anexo A – Cartas de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

Grupo de Pesquisa e Pós Graduação

Carta de Aprovação

Projeto

2019/0753

Pesquisadores:

MARCIA KAUER SANT ANNA

ERICO DE MOURA SILVEIRA
JUNIOR

MIREIA FORTES VIANNA
SULZBACH

JÉFERSON FERRAZ GOULARTE

GABRIEL HENRIQUE HIZO

JAIRO VINICIUS MEREGE DE
MELLO CRUZ PINTO

GIOVANA BRISTOT

KEILA MARIA MENDES CERESER

FERNANDA ENDLER VALIATI

Número de Participantes: 100

Título: Potencial Anti-inflamatório e Antioxidante do Canabidiol no Tratamento do Transtorno Bipolar

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG).

08/04/2020



Assinado digitalmente por:
PATRICIA ASHTON PROLLA

Grupo de Pesquisa e Pós-graduação
09/04/2020 15:00:42

endereco: https://edu.br/pesquisa/publicacoes/destrospq/conferencia/Arquivo_shtm?file=449482072

Impresso do sistema AGHUse-Pesquisa por CRISTIAN FIDALGO CABRAL em 08/04/2020 15:42:44

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do projeto CAAE 28883620.7.0000.5327

Título do Projeto: Potencial Anti-inflamatório e Antioxidante do Canabidiol no Tratamento do Transtorno Bipolar.

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa cujo objetivo é estudar de forma mais detalhada como o Canabidiol atua no organismo humano, compreendendo como ele pode ser utilizado no tratamento do transtorno bipolar. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Laboratório de Psiquiatria Molecular e pelo Programa de Pós-graduação em Psiquiatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Estamos realizando esse convite, pois você participa do estudo intitulado “Ensaio clínico duplo-cego, randomizado e controlado por placebo para avaliar a eficácia do canabidiol como tratamento adjuvante para depressão bipolar”, conduzido pelo mesmo grupo de pesquisa.

Se você aceitar o convite para participar desta nova pesquisa, os procedimentos envolvidos são os seguintes:

- Autorizar a utilização do material biológico (sangue) já coletado para o estudo anterior, e que se encontra armazenado, para novas análises laboratoriais.

- Autorizar o uso dos seus dados já coletados para o estudo anterior, e que estão armazenados em um banco de dados do estudo.

Não são conhecidos riscos pela participação na pesquisa, exceto a possibilidade de quebra da confidencialidade dos dados. Os pesquisadores tomarão o cuidado para que isto não ocorra, utilizando sempre um código para identificação do participante.

O possível benefício decorrente da participação na pesquisa é contribuir para o desenvolvimento de maior conhecimento sobre o transtorno bipolar e de seu tratamento, não tendo benefício direto em curto prazo.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável Márcia Kauer Sant’Anna, pelo telefone (51) 3359.8845, com o pesquisador Gabriel Henrique Hizo, pelo telefone (51)3359.8845 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359.7640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2229, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do projeto CAAE: 63811317.3.0000.5327

Título do Projeto: Ensaio clínico duplo-cego, randomizado e controlado por placebo para avaliar a eficácia do canabidiol como tratamento adjuvante para depressão bipolar.

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é conhecer a eficácia da medicação canabidiol para o tratamento dos episódios de depressão dos pacientes com transtorno bipolar. Também temos como objetivo testar a tolerância dos pacientes a esta medicação e a avaliar seu impacto no tratamento. Esta medicação é derivada da planta *Cannabis sativa* e já está liberada para o tratamento de epilepsia no Brasil. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Psiquiatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e pelo Programa de Pós-graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Se você aceitar participar da pesquisa, os procedimentos envolvidos em sua participação são os seguintes:

Será realizado um sorteio para definir a sua participação em um dos grupos do estudo (esse processo chama-se randomização).

Em um dos grupos os participantes receberão cápsulas com a medicação canabidiol e no outro grupo os participantes receberão cápsulas sem a medicação canabidiol este grupo é chamado de grupo placebo).

Você receberá a medicação da pesquisa (canabidiol ou placebo) e deverá tomar duas cápsulas diárias, além de seus medicamentos de uso contínuo conforme indicação de seu médico psiquiatra.

Como é um sorteio, você não poderá escolher o grupo. Você e o pesquisador que realizar as avaliações não saberão em que grupo você foi incluído (esse processo chama-se “cegamento”). Apenas o farmacêutico saberá em que grupo cada participante entrou.

Você também deverá participar de cinco encontros que serão realizados no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA:

1º Encontro: Será realizada uma entrevista pelo pesquisador na qual você responderá perguntas sobre informações pessoais de endereço, aproveitamento escolar, renda da sua família e sobre seu trabalho. Além disso, serão realizadas perguntas sobre seu histórico de saúde e saúde atual em relação ao transtorno bipolar e qualidade de vida. Serão realizados ao todo nove questionários para avaliação dessas informações com duração de aproximadamente duas horas. Serão realizadas também medidas de seu peso, sua altura e sua pressão-arterial. Após estes testes e medidas será coletada uma amostra de 10 mL de sangue (equivalente a uma colher de sopa) para avaliação de algumas informações em relação ao seu tratamento atual e posterior comparação com resposta ao tratamento com canabidiol desta pesquisa.

2º Encontro (duas semanas após o primeiro encontro): você retornará para avaliação da sua tolerância à medicação e a resposta ao tratamento através da resposta aos mesmos nove questionários. Esse encontro levará em torno de 40 minutos.

3º Encontro (duas semanas após o segundo encontro): você retornará ao centro de pesquisas para novamente ser avaliado como está o seu tratamento do estudo e se há algum efeito colateral da medicação. Você responderá aos mesmos nove questionários. Este encontro terá duração de aproximadamente 40 minutos. Neste mesmo dia também será coletada uma amostra de 10 mL sangue (equivalente a uma colher de sopa) para verificação da sua resposta ao medicamento e serão realizadas também medidas de seu peso, sua altura e sua pressão-arterial.

4º Encontro (quatro semanas após o terceiro encontro): será realizada uma avaliação igual à realizada no 3º encontro. Você retornará para avaliação da sua tolerância à medicação e a resposta ao tratamento através da resposta aos mesmos nove questionários dos encontros anteriores. Esse encontro levará em torno de 40 minutos e novamente serão coletados 10mL (equivalente a uma colher de sopa) de sangue para realização de exames para avaliar sua resposta ao tratamento e serão realizadas também medidas de seu peso, sua altura e sua pressão-arterial.

5º Encontro (quatro semanas após o quarto encontro): será realizada uma avaliação igual à do 4º encontro. Você retornará ao ambulatório para novamente avaliar como está o seu tratamento e se há algum efeito colateral da medicação. Você responderá aos mesmos nove questionários das demais visitas. Este encontro terá duração de aproximadamente 40 minutos. Neste mesmo dia também será coletada uma amostra de 10 mL sangue (equivalente a uma colher de sopa) para verificação da sua resposta ao medicamento e serão realizadas também medidas de seu peso, sua altura e sua pressão-arterial.

O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. Após a realização das análises previstas neste projeto, as amostras serão armazenadas. Este material, além de ser utilizado neste estudo, poderá ser utilizado em outros estudos futuros do nosso grupo. Neste caso, um novo projeto de pesquisa será submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa e você será chamado para consentir com o uso do material.

() Aceito que minhas amostras sejam armazenadas para pesquisas futuras.

() Não aceito que minhas amostras sejam armazenadas para pesquisas futuras.

Os possíveis desconfortos decorrentes da participação na pesquisa estão relacionados às perguntas dos questionários, tempo de duração das visitas, e possível dor ou mancha roxa no local da coleta de sangue. O canabidiol é considerado uma medicação segura, bem tolerada e com poucos efeitos colaterais, mesmo em doses mais altas do que as que serão usadas nesse estudo. Alguns dos efeitos colaterais já descritos são sensação de boca seca, sonolência, fadiga e aumento do apetite.

Os possíveis benefícios decorrentes da participação na pesquisa são os efeitos esperados pelo tratamento com canabidiol para o transtorno bipolar, como melhora do humor e da ansiedade. Além disso, através dos questionários e exames de

laboratório, pode-se identificar algum problema de saúde não antes conhecido. Nestes casos, você será encaminhado para o tratamento adequado. Esta pesquisa também poderá ajudar a desenvolver maior conhecimento sobre o transtorno bipolar e de seu tratamento.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Prof^a. Dra. Márcia Kauer Sant'Anna, pelo telefone (51) 3359.8845, com o pesquisador Jairo Vinícius Pinto, pelo telefone (51) 3359.8845 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

ETAPA 1

Gostaríamos de convidá-lo a participar da primeira etapa do estudo: “Avaliação dos mecanismos de ruminação nos Transtornos Mentais: abordagem RDoC (Research Domain Criteria)”, realizado pelo Laboratório de Psiquiatria Molecular do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Qual o objetivo desta pesquisa?

Esta pesquisa tem por objetivo entender melhor como funciona a relação entre os sintomas de ruminação (pensamentos repetitivos que duram muito tempo) e as doenças psiquiátricas. Ou seja, conhecer melhor como a ruminação altera a capacidade de concentração, atenção, memória e execução de tarefas.

Justificativa para fazer a pesquisa

Um maior conhecimento sobre os mecanismos bioquímicos, genéticos, neurológicos e psicológicos envolvidos na ruminação (pensamentos repetitivos) poderá contribuir futuramente para o tratamento deste sintoma, a fim de reduzir a chance de piora da capacidade em realizar tarefas de lazer e trabalho.

No que consiste a participação nesta etapa da pesquisa?

A etapa 1 consiste na aplicação de 5 questionários sobre seus dados pessoais, sintomas psiquiátricos e atividades, exame de sangue através de punção venosa e autorização para os pesquisadores acessarem suas informações médicas registradas no prontuário (no caso de você ser paciente do HCPA). Depois que você responder às questões em estudo através dos questionários, será realizado um exame de sangue. O exame de sangue será utilizado para observar se há alterações de substâncias encontradas no seu sangue e pesquisar possíveis alterações genéticas que possam estar relacionadas com a ruminação (pensamentos repetitivos). Esta pesquisa possui dois grupos: você pode estar sendo convidado para fazer parte do primeiro grupo por já ser um paciente do Ambulatório de Psiquiatria do HCPA ou então para fazer parte do segundo grupo, chamado Controle.

O que é o grupo Controle neste estudo?

É um grupo de pessoas que não possui os sintomas que queremos estudar, neste caso a ruminação, ou seja, indivíduos sem doença psiquiátrica diagnosticada e que se disponibiliza a contribuir fornecendo seus dados, os quais serão usados como referência padrão para comparação com os dados do grupo de pessoas portadora da condição estudada.

Quais os benefícios em participar deste estudo?

A sua participação neste estudo poderá, no âmbito pessoal, permitir identificar se você apresenta estes pensamentos repetitivos e duradouros (ruminação) que o levam a perder tempo e o impedem de realizar alguma tarefa importante. Caso a ruminação seja identificada, você e seu médico serão contatados e informados a respeito. Entretanto, como ainda não existe um tratamento específico para estes pensamentos repetitivos, este estudo possivelmente não lhe trará um benefício direto.

Quais são os riscos que envolvem este estudo?

Este estudo possui riscos mínimos que são inerentes do procedimento de coleta de sangue, como leve desconforto no seu braço, mal-estar passageiro e/ou manchas roxas

temporárias no local da punção. Além disso, você poderá sentir-se desconfortável ao responder os questionários propostos, pois constam perguntas relativas à sua vida pessoal.

Voluntariedade e Confidencialidade

Os pesquisadores consultarão os seus registros médicos do prontuário, a fim de verificar suas informações de saúde (no caso de você ser paciente do HCPA). Para tanto, os seus dados serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados desse estudo poderão ser enviados para publicação em um jornal científico, mas você não será identificado pelo nome. Sua participação no estudo é totalmente voluntária, a não participação ou desistência após ingressar no estudo não implicará em nenhum tipo de prejuízo para o participante, nem afetará o tratamento que você recebe nesta Instituição (no caso de você ser paciente do HCPA).

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação no estudo e o participante não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, tendo em vista que os exames e os questionários serão realizados no dia em que você tem sua consulta médica de rotina.

Declaro que:

1. Concordo voluntariamente em fazer parte desse estudo. Estou ciente de que tenho total liberdade de desistir da participação no estudo a qualquer momento, sem que haja prejuízos ao meu tratamento.
2. Concordo em autorizar o acesso pelos pesquisadores às informações dos meus registros médicos sob o entendimento de que elas serão tratadas confidencialmente.
3. Concordo em ser contatado futuramente para ser convidado a participar de uma segunda etapa da pesquisa (Etapa 2), a qual será devidamente explicada e apresentará outro consentimento específico se você queira participar:
() SIM, eu autorizo novo contato () NÃO, eu não autorizo novo contato

Em caso de qualquer dúvida quanto ao estudo você poderá contatar o Pesquisador Érico de Moura Silveira Júnior ou a Pesquisadora Responsável Marcia Kauer Sant'Anna pelo telefone (51) 3359-8845 (Laboratório de Psiquiatria Molecular – HCPA) ou o Comitê de Ética, no 2º andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone (51) 3359-8304, das 8h às 17h, de segunda à sexta.

Este documento é elaborado em duas vias, sendo uma delas entregue ao participante e outra mantida pelo grupo de pesquisadores.

Nome do paciente: _____

Assinatura do Paciente: _____

Nome do responsável legal (se aplicável): _____

Assinatura do Responsável: _____

Nome do Pesquisador: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Local e Data: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

ETAPA 2

Tendo em vista que você já participou anteriormente da primeira etapa deste estudo, gostaríamos de convidá-lo a participar da segunda etapa do estudo: “Avaliação dos mecanismos de ruminação nos Transtornos Mentais: abordagem RDoC (Research Domain Criteria)”, realizado pelo Laboratório de Psiquiatria Molecular do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Qual o objetivo desta pesquisa?

Esse estudo tem por objetivo entender melhor como funciona a relação entre os sintomas de ruminação (pensamentos repetitivos que duram muito tempo) e as doenças psiquiátricas. Ou seja, conhecer melhor como a ruminação altera a capacidade de concentração, atenção, memória e execução de tarefas.

Justificativa para fazer a pesquisa

Um maior conhecimento sobre os mecanismos bioquímicos, genéticos, neurológicos e psicológicos envolvidos na ruminação (pensamentos repetitivos) poderá contribuir futuramente para o tratamento deste sintoma, a fim de reduzir a chance de piora da capacidade em realizar tarefas de lazer e trabalho.

No que consiste a participação nesta etapa do estudo?

Esta etapa 2 do projeto consiste em responder novamente algumas questões que lhe serão entregues pelo pesquisador e explicadas para que você responda durante as suas atividades diárias, e a realização de mais dois exames: um Eletroencefalograma (EEG), que será realizado durante a execução de tarefas no computador que avaliam a sua atenção (com duração aproximada de 30 minutos), uma Ressonância Magnética Cerebral (com duração aproximada de 60 minutos) e uma Experiência de 5 dias, em que você anotará num diário informações a respeito dos seus pensamentos, 6 vezes ao dia. O Eletroencefalograma avaliará a relação entre a ruminação e as áreas cerebrais envolvidas. E a Ressonância Magnética Cerebral avaliará as partes do seu cérebro envolvidas neste processo. Esta experiência de 5 dias avaliará se a ruminação altera o estado de humor e de ansiedade durante o dia.

No Eletroencefalograma você vestirá uma espécie de touca na cabeça e fará tarefas de atenção no computador. Na Ressonância Magnética Cerebral você vestirá um avental e será encaminhado (a) para a sala de exame. Na sala de exames você terá que permanecer sozinho (a), embora a equipe esteja lhe monitorando e em comunicação com você o tempo todo, caso precise de algo. O exame é realizado em uma máquina grande que parece um tubo aberto nas duas extremidades. Você escutará um forte ruído que a máquina produz, para reduzir o desconforto lhe será oferecido fones de ouvido. Após alguns minutos de exame, você passará a ouvir alguns comandos de voz através dos fones solicitando que você pense em algumas situações. Você poderá sentir ansiedade relacionada com o ambiente em que é realizado o exame, tendo em vista

que o espaço para se mover dentro do tudo é limitado. Para este mesmo exame será realizada a punção venosa para injetar o contraste necessário para realizar o exame.

Para a Experiência de 5 dias, você receberá um dispositivo para utilizar como um relógio de pulso durante o dia, ao longo de 5 dias seguidos. O objetivo deste relógio é soar um alarme sonoro, como um despertador, 6 vezes durante o dia em horários a combinar, para que você lembre de fazer as anotações sobre os pensamentos no diário que

lhe será entregue, conforme as orientações que você receberá do pesquisador.

Esta pesquisa possui dois grupos: você pode estar sendo convidado para fazer parte do primeiro grupo por já ser um paciente do Ambulatório de Psiquiatria do HCPA ou então para fazer parte do segundo grupo, chamado Controle.

O que é o grupo Controle neste estudo?

É um grupo de pessoas sem doença psiquiátrica diagnosticada e que não possui os sintomas que queremos estudar, neste caso a ruminação, e que se disponibiliza a contribuir fornecendo seus dados, os quais serão usados como referência padrão para comparação com os dados do grupo de pessoas portadora da condição estudada.

Quais os benefícios em participar deste estudo?

A sua participação neste estudo poderá, no âmbito pessoal, permitir identificar se você apresenta estes pensamentos repetitivos e duradouros (ruminação) que o levam a perder tempo e o impedem de realizar alguma tarefa importante. Caso a ruminação seja identificada, você e seu médico serão contatados e informados a respeito. Entretanto, como ainda não existe um tratamento específico para estes pensamentos repetitivos, este estudo possivelmente não lhe trará um benefício direto.

Quais são os riscos que envolvem este estudo?

Você poderá sentir-se desconfortável ao responder o questionário proposto, pois constam perguntas relativas à sua vida pessoal.

O exame de Eletroencefalograma não envolve riscos físicos, você poderá apenas achar um pouco cansativo, já que precisará prestar atenção nas tarefas propostas, que é o objetivo do exame.

O exame de Ressonância Magnética Cerebral poderá lhe causar desconfortos relacionados ao fato de estar sozinho na sala, ao ruído escutado durante o exame ou ainda desconforto térmico (frio) tendo em vista que a sala é refrigerada. Os riscos deste exame estão associados ao uso do contraste, indicado para realização deste exame. Se você é alérgico ao contraste utilizado para realizar este exame, você poderá utilizar o mesmo sem a utilização de contraste. Todos os riscos envolvidos serão detalhadamente explicados a você novamente pela equipe responsável pelo exame no local de realização, e um outro termo de consentimento específico para a realização de Ressonância Magnética será solicitado a você antes de realizar o exame.

Na experiência de 5 dias, não são conhecidos riscos. Os desconfortos possíveis estão relacionados ao fato de utilizar o dispositivo equivalente a um relógio de pulso por 5 dias e ter de preencher o diário toda a vez que soar o sinal sonoro (6 vezes ao dia). Mas os sinais sonoros respeitarão suas refeições, higiene e o seu sono, de acordo com o que será combinado entre você e o pesquisador.

Voluntariedade e Confidencialidade

Os pesquisadores podem precisar examinar os seus registros médicos do prontuário, a fim de verificar suas informações de saúde. No entanto, os seus dados serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados desse estudo poderão ser enviados para publicação em um jornal científico, mas você não será identificado pelo nome. Sua participação no estudo é totalmente voluntária, a não participação ou desistência após ingressar no estudo não implicará em nenhum tipo de prejuízo para o participante, nem afetará o tratamento que você recebe nesta Instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação no estudo e o participante não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, tendo em vista que os exames e os questionários serão realizados no dia em que você tem sua consulta médica de rotina.

Declaro que:

1. Concordo voluntariamente em fazer parte desse estudo. Estou ciente de que tenho total liberdade de desistir da participação no estudo a qualquer momento, sem que haja prejuízos ao meu tratamento.
2. Concordo em autorizar o acesso pelos pesquisadores às informações dos meus registros médicos sob o entendimento de que elas serão tratadas confidencialmente.

Em caso de qualquer dúvida quanto ao estudo você poderá contatar o Pesquisador Érico de Moura Silveira Júnior ou a Pesquisadora Responsável Marcia Kauer Sant'Anna pelo telefone (51) 3359-8845 (Laboratório de Psiquiatria Molecular – HCPA) ou o Comitê de Ética, no 2º andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone (51) 3359-8304, das 8h às 17h ,de segunda à sexta.

Este documento é elaborado em duas vias, sendo uma delas entregue ao participante e outramantida pelo grupo de pesquisadores.

Nome do paciente: _____

Assinatura do Paciente: _____

Nome do responsável legal (se aplicável): _____

Assinatura do Responsável: _____

Nome do Pesquisador: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Local e Data: _____

Anexo B – Instruções para a submissão de manuscritos na revista *Bipolar Disorders*.

Author Guidelines

Sections

1. Submission
2. Aims and Scope
3. Manuscript Categories and Requirements
4. Preparing the Submission
5. Editorial Policies and Ethical Considerations
6. Author Licensing
7. Publication Process After Acceptance
8. Post Publication
9. Editorial Office Contact Details

1. SUBMISSION

Authors should kindly note that submission implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.

Once the submission materials have been prepared in accordance with the Author Guidelines, manuscripts should be submitted online at <https://mc.manuscriptcentral.com/bdi>

Data protection

By submitting a manuscript to or reviewing for this publication, your name, email address, and affiliation, and other contact details the publication might require, will be used for the regular operations of the publication, including, when necessary, sharing with the publisher (Wiley) and partners for production and publication. The publication and the publisher recognize the importance of protecting the personal information collected from users in the operation of these services, and have practices in place to ensure that steps are taken to maintain the security, integrity, and privacy of the personal data collected and processed. You can learn more at <https://authorservices.wiley.com/statements/data-protection-policy.html>.

Preprint policy

This journal accepts articles previously published on preprint servers.

Bipolar Disorders will consider for review articles previously available as preprints. Authors may also post the submitted version of a manuscript to a preprint server at any time. Authors are requested to update any pre-publication versions with a link to the final published article.

For help with submissions, please contact: BDIedoffice@wiley.com

2. AIMS AND SCOPE

Bipolar Disorders is an international journal that publishes all research of relevance for the basic mechanisms, clinical aspects, or treatment of bipolar disorders and related illnesses. It intends to provide a single international outlet for new research in this area and covers research in the following areas:

- biochemistry
- physiology
- neuropsychopharmacology
- neuroanatomy
- neuropathology
- genetics
- brain imaging
- epidemiology
- phenomenology
- clinical aspects
- and therapeutics of bipolar disorders

Bipolar Disorders also contains papers that form the development of new therapeutic strategies for these disorders as well as papers on the topics of schizoaffective disorders, and depressive disorders as these can be cyclic disorders with areas of overlap with bipolar disorders.

3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

Bipolar Disorders - An International Journal of Psychiatry and Neurosciences will consider for publication submissions within the domain of: Perspectives, Research Articles, Correspondence, Clinical Corner, and Reflections. Within these there are a number of types of articles: invited editorials, debates, review articles, original articles, commentaries, letters to the editors, clinical conundrums, clinical curiosities, clinical care, and musings.

Type	Maximum Count	Word references	Maximum no. of Abstract Keywords	/
PERSPECTIVES				
Editorial	2000	5	No	

Debate	1200	5	No
RESEARCH ARTICLES			
Review Article	4000-7500	100	Yes
Original Article	5000	50	Yes
CORRESPONDENCE			
Commentary	800	5	No
Letter	400	3	No
CLINICAL CORNER			
Clinical Conundrum	800-1500	5	No
Clinical Curiosity	800-1500	5	No
Clinical Care	800-1500	5	No
REFLECTIONS			
Musing	600	3	No

Editorial: These should address contemporary topics of interest and provide thought-provoking discussion. The presentation of new hypotheses and novel ideas pertaining to psychiatry are welcome.

Debate: These are brief provocative accounts that provide differing perspectives on a single shared issue or topic of discussion. Their focus may be similar to that of editorials but these are generally shorter pieces that make one or two salient points.

Review Articles: These papers provide a timely and useful synthesis of a topic within psychiatry. They may have a clinical and/or research focus. In exceptional circumstances these papers may exceed the specified length but this should be negotiated with the Editor at the time of submission.

Original Articles: These are papers that report original high quality research. Articles illustrating novel findings, innovation and clinical trials will be given priority.

Commentary: This is correspondence typically pertaining to a recent or concurrently published article within Bipolar Disorders. Usually comments and critiques will be passed on to the authors of the original article; however, this will not determine the outcome of review and publication. Commentaries may also address topical issues that have been considered in the journal.

Letter: Correspondence to the Editor is welcomed and encouraged on any aspect of psychiatry within the scope of the journal.

Clinical Conundrum: This Clinical Corner article is a brief case report that illustrates contentious clinical issues in psychiatry and aims to provide advice to practicing clinicians. The article should follow the following structured template:

- Key Message (50 words)
- Case Presentation
- Discussion
- Learning points (2-3 bullet points) - *optional*
- 1 life chart and/or 1 supporting figure

Clinical Curiosity: This Clinical Corner article is a brief case report detailing rare or unusual clinical cases and their management. The structure for this article is as follows:

- Key Message (50 words)
- Case Presentation
- Discussion
- Learning points (2-3 bullet points) - *optional*
- 1 life chart and/or 1 supporting figure

Clinical Care: This Clinical Corner article addresses new or updated standards of optimal care. It is aimed at informing clinicians of current diagnostic, treatment or management standards. This article must include:

- Key Message (50 words)
- Detailed discussion
- Learning points (2-3 bullet points)
- 1 supporting figure

Musing: This is a brief narrative article of interest or one relating to a matter of historical or future interest. It may include a figure/picture.

Revised manuscripts should be accompanied by a point-by-point reply to the recommendations of reviewers and Editor, specifying the changes made in the revised version.

Editor's Choice and Key Review

Each issue one article is selected as the 'Editor's Choice' and one review paper is selected as the 'Key Review'. These selections are made by the Editor and are based on quality, scientific impact and scope. The articles chosen as Editor's Choice and Key Review will be published as Free Access.

4. PREPARING THE SUBMISSION

Cover Letters

Cover letters are not mandatory; however, they may be supplied at the author's discretion.

Parts of the Manuscript

The manuscript should be submitted in separate files: main text file; figures.

Main Text File

The text file should be presented in the following order:

- i. A short informative title that contains the major key words. The title should not contain abbreviations (see Wiley's [best practice SEO tips](#));
- ii. A short running title of less than 40 characters;
- iii. The full names of the authors;
- iv. The author's institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;
- v. Acknowledgments;
- vi. Abstract and keywords;
- vii. Main text;
- viii. References;
- ix. Tables (each table complete with title and footnotes);
- x. Figure legends;
- xi. Appendices (if relevant).

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

Authorship

Please refer to the journal's authorship policy the [Editorial Policies and Ethical Considerations](#) section for details on eligibility for author listing.

Acknowledgments

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section. Financial and material support should also be mentioned. Thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

Conflict of Interest Statement

Authors will be asked to provide a conflict of interest statement during the submission process. For details on what to include in this section, see the section ‘Conflict of Interest’ in the Editorial Policies and Ethical Considerations section below. Submitting authors should ensure they liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement.

Abstract

An abstract is only required for Review Articles and Original Articles. The abstract should not exceed 250 words and should be arranged in a structured fashion to include objectives, methods, results, and conclusions. It should state the purpose of the study, basic procedures (study subject /patients / animals, and methods), main findings (specific data and statistical significance), and principal conclusions. For Clinical Corner articles, a 50-word key message should be provided.

Keywords

Please provide 3-10 keywords. Keywords should be taken from those recommended by the US National Library of Medicine's Medical Subject Headings (MeSH) browser list at www.nlm.nih.gov/mesh.

Main Text

- **Introduction:** Present the background briefly, but do not review the subject extensively. Give only pertinent references. State the specific questions you want to answer.
- **Patients and methods / Materials and methods:** Describe selection of patients or experimental animals, including controls. Do not use patients' names or hospital numbers. Identify methods, apparatus (manufacturer's name and address), and procedures in sufficient detail to allow other workers to reproduce the results. Provide references and brief descriptions of methods that have been published. When using new methods, evaluate their advantages and limitations. Identify drugs and chemicals, including generic name, dosage and route(s) of administration.
- **Results:** Present results in logical sequence in tables and illustrations. In the text, explain, emphasize, or summarize the most important observations.
- **Discussion:** Do not repeat in detail data given in the Results section. Emphasize the new and important aspects of the study. Relate the observations to other relevant studies. On the basis of your findings (and others') discuss possible implications / conclusions. When stating a new hypothesis, clearly label it as such.

References

All references should be numbered consecutively in order of appearance and should be as complete as possible. In text citations should cite references in consecutive order using Arabic superscript numerals. For more information about AMA reference style please consult the AMA Manual of Style

Sample references follow:

Journal article

1. King VM, Armstrong DM, Apps R, Trott JR. Numerical aspects of pontine, lateral reticular, and inferior olivary projections to two paravermal cortical zones of the cat cerebellum. *J Comp Neurol* 1998;390:537-551.

Book

2. Voet D, Voet JG. *Biochemistry*. New York: John Wiley & Sons; 1990. 1223 p.

Internet document

3. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures* 2003.

<http://www.cancer.org/downloads/STT/CAFF2003PWSecured.pdf> Accessed March 3, 2003

Tables

Tables should be self-contained and complement, not duplicate, information contained in the text. They should be supplied as editable files, not pasted as images. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend, and footnotes must be understandable without reference to the text. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

Figure Legends

Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Figures

All figures should clarify the text and their numbers kept to a minimum. Although authors are encouraged to send the highest-quality figures possible, for peer-review purposes, a wide variety of formats, sizes, and resolutions are accepted.

Colour Figures. Figures submitted in colour may be reproduced in colour online free of charge. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and white so that they are legible if printed by a reader in black and white.

Data Citation

Additional Files

Appendices

Appendices will be published after the references. For submission they should be supplied as separate files but referred to in the text.

Supporting Information

Supporting information is information that is not essential to the article, but provides greater depth and background. It is hosted online and appears without editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc.

Note: if data, scripts, or other artefacts used to generate the analyses presented in the paper are available via a publicly available data repository, authors should include a reference to the location of the material within their paper.

General Style Points

The following points provide general advice on formatting and style.

- **Abbreviations:** Should be standardized and in accordance with ELLIS G (ed.). Units, symbols and abbreviations. The Royal Society of Medicine, 1 Wimpole Street, London W1M 8AE, 1975. In general, terms should not be abbreviated unless they are used repeatedly and the abbreviation is helpful to the reader. Initially, use the word in full, followed by the abbreviation in parentheses. Thereafter use the abbreviation only.
- **Units of measurement:** Measurements should be given in SI or SI-derived units. Visit the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) website at www.bipm.fr for more information about SI units.
- **Numbers:** numbers under 10 are spelt out, except for: measurements with a unit (8mmol/l); age (6 weeks old), or lists with other numbers (11 dogs, 9 cats, 4 gerbils).
- **Trade Names:** Chemical substances should be referred to by the generic name only. Trade names should not be used. Drugs should be referred to by their generic names. If proprietary drugs have been used in the study, refer to these by their generic name, mentioning the proprietary name and the name and location of the manufacturer in parentheses.

Resource Identification Initiative

The journal supports the [Resource Identification Initiative](#), which aims to promote research resource identification, discovery, and reuse. This initiative, led by the [Neuroscience Information Framework](#) and the [Oregon Health & Science University Library](#), provides unique identifiers for antibodies, model organisms, cell lines, and tools including software and databases. These IDs, called Research Resource Identifiers (RRIDs), are machine-readable and can be used to search for all papers where a particular resource was used and to increase access to critical data to help researchers identify suitable reagents and tools.

Authors are asked to use RRIDs to cite the resources used in their research where applicable in the text, similar to a regular citation or Genbank Accession number. For antibodies, authors should include in the citation the vendor, catalogue number, and RRID both in the text upon first mention in the Methods section. For software tools and databases, please provide the

name of the resource followed by the resource website, if available, and the RRID. For model organisms, the RRID alone is sufficient.

Additionally, authors must include the RRIDs in the list of keywords associated with the manuscript.

To Obtain Research Resource Identifiers (RRIDs)

1. Use the [Resource Identification Portal](#), created by the Resource Identification Initiative Working Group.
2. Search for the research resource (please see the section titled “Search Features and Tips” for more information).
3. Click on the “Cite This” button to obtain the citation and insert the citation into the manuscript text.

If there is a resource that is not found within the Resource Identification Portal, authors are asked to register the resource with the appropriate resource authority. Information on how to do this is provided in the [“Resource Citation Guidelines”](#) section of the Portal.

If any difficulties in obtaining identifiers arise, please contact rii-help@scicrunch.org for assistance.

Example Citations

Antibodies: "Wnt3 was localized using a rabbit polyclonal antibody C64F2 against Wnt3 (Cell Signaling Technology, Cat# 2721S, RRID: AB_2215411)"

Model Organisms: "Experiments were conducted in *c. elegans* strain SP304 (RRID:CGC_SP304)"

Cell lines: "Experiments were conducted in PC12 CLS cells (CLS Cat# 500311/p701_PC-12, RRID:CVCL_0481)"

Tools, software, and Databases: "Image analysis was conducted with CellProfiler Image Analysis Software, V2.0 (<http://www.cellprofiler.org>, RRID:nif-0000-00280)"

Wiley Author Resources

Manuscript Preparation Tips: Wiley has a range of resources for authors preparing manuscripts for submission available [here](#). In particular, authors may benefit from referring to Wiley’s best practice tips on [Writing for Search Engine Optimization](#).

Article Preparation Support: [Wiley Editing Services](#) offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with

confidence.

Also, check out our resources for [Preparing Your Article](#) for general guidance about writing and preparing your manuscript.

5. EDITORIAL POLICIES AND ETHICAL CONSIDERATIONS

Peer Review and Acceptance

The acceptance criteria for all papers are the quality and originality of the research and its significance to journal readership. Manuscripts are single-blind peer reviewed. Papers will only be sent to review if the Editor-in-Chief determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements.

Guidelines on Publishing and Research Ethics in Journal Articles

Please review Wiley's policies surrounding human studies, animal studies, clinical trial registration, biosecurity, and research reporting guidelines here.

Species Names

Upon its first use in the title, abstract, and text, the common name of a species should be followed by the scientific name (genus, species, and authority) in parentheses. For well-known species, however, scientific names may be omitted from article titles. If no common name exists in English, only the scientific name should be used.

Genetic Nomenclature

Sequence variants should be described in the text and tables using both DNA and protein designations whenever appropriate. Sequence variant nomenclature must follow the current HGVS guidelines; see varnomen.hgvs.org, where examples of acceptable nomenclature are provided.

Sequence Data

Nucleotide sequence data can be submitted in electronic form to any of the three major collaborative databases: DDBJ, EMBL, or GenBank. It is only necessary to submit to one database as data are exchanged between DDBJ, EMBL, and GenBank on a daily basis. The suggested wording for referring to accession-number information is: 'These sequence data have been submitted to the DDBJ/EMBL/GenBank databases under accession number U12345'. Addresses are as follows:

- DNA Data Bank of Japan (DDBJ): www.ddbj.nig.ac.jp
- EMBL Nucleotide Archive: ebi.ac.uk/ena

- GenBank: www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank

Proteins sequence data should be submitted to either of the following repositories:

- Protein Information Resource (PIR): pir.georgetown.edu
- SWISS-PROT: expasy.ch/sprot/sprot-top

Conflict of Interest

The journal requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to: patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships.

Funding

Authors should list all funding sources in the Acknowledgments section. Authors are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the Open Funder Registry for the correct nomenclature: <https://www.crossref.org/services/funder-registry/>

Authorship

The list of authors should accurately illustrate who contributed to the work and how. All those listed as authors should qualify for authorship according to the following criteria:

1. Have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; and
2. Been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; and
3. Given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content; and
4. Agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section (for example, to

recognize contributions from people who provided technical help, collation of data, writing assistance, acquisition of funding, or a department chairperson who provided general support). Prior to submitting the article all authors should agree on the order in which their names will be listed in the manuscript.

Additional Authorship Options. Joint first or senior authorship: In the case of joint first authorship, a footnote should be added to the author listing, e.g. ‘X and Y should be considered joint first author’ or ‘X and Y should be considered joint senior author.’

Data Sharing and Data Accessibility

Please review Wiley’s policy. This journal expects data sharing.

Bipolar Disorders recognizes the many benefits of archiving research data. *Bipolar Disorders* expects you to archive all the data from which your published results are derived in a public repository. The repository that you choose should offer you guaranteed preservation (see the registry of research data repositories at <https://www.re3data.org/>) and should help you make it findable, accessible, interoperable, and re-useable, according to FAIR Data Principles (<https://www.force11.org/group/fairgroup/fairprinciples>).

All accepted manuscripts are required to publish a data availability statement to confirm the presence or absence of shared data. If you have shared data, this statement will describe how the data can be accessed, and include a persistent identifier (e.g., a DOI for the data, or an accession number) from the repository where you shared the data. Authors will be required to confirm adherence to the policy. If you cannot share the data described in your manuscript, for example for legal or ethical reasons, or do not intend to share the data then you must provide the appropriate data availability statement. *Bipolar Disorders* notes that FAIR data sharing allows for access to shared data under restrictions (e.g., to protect confidential or proprietary information) but notes that the FAIR principles encourage you to share data in ways that are as open as possible (but that can be as closed as necessary).

Sample statements are available. If published, all statements will be placed in the heading of your manuscript.

Human subject information in databases. The journal refers to the World Health Medical Association Declaration of Taipei on Ethical Considerations Regarding Health Databases and Biobanks.

Publication Ethics

This journal is a member of the Committee on Publication Ethics (COPE). Note this journal uses iThenticate’s CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read Wiley's Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors here. Wiley’s Publication Ethics Guidelines can be found here.

ORCID

As part of the journal's commitment to supporting authors at every step of the publishing process, the journal requires the submitting author (only) to **provide an ORCID iD when submitting a manuscript**. This takes around 2 minutes to complete. [Find more information here](#). If the submitting author intends to link other coauthor's ORCID iD to the manuscript, this must be done during the submission process.

6. AUTHOR LICENSING

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author will receive an email prompting them to log in to Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be required to complete a copyright license agreement on behalf of all authors of the paper.

Authors may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or [Open Access](#) under the terms of a Creative Commons License.

General information regarding licensing and copyright is available [here](#). To review the Creative Commons License options offered under Open Access, please [click here](#). (Note that certain funders mandate that a particular type of CC license has to be used; to check this please click [here](#).)

Self-Archiving definitions and policies. Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions. Please [click here](#) for more detailed information about self-archiving definitions and policies.

Open Access fees: If you choose to publish using Open Access you will be charged a fee. A list of Article Publication Charges for Wiley journals is available [here](#).

Funder Open Access: Please click [here](#) for more information on Wiley's compliance with specific Funder Open Access Policies.

7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

Accepted article received in production

When an accepted article is received by Wiley's production team, the corresponding author will receive an email asking them to login or register with [Wiley Author Services](#). The author will be asked to sign a publication license at this point.

Proofs

Authors will receive an e-mail notification with a link and instructions for accessing HTML page proofs online. Page proofs should be carefully proofread for any copyediting or typesetting errors. Online guidelines are provided within the system. No special software is required, most common browsers are supported. Authors should also make sure that any renumbered tables, figures, or references match text citations and that figure legends correspond with text citations and actual figures. Proofs must be returned within 48 hours of receipt of the email. Return of proofs via e-mail is possible in the event that the online system cannot be used or accessed.

Early View

The journal offers rapid speed to publication via Wiley's Early View service. Early View (Online Version of Record) articles are published on Wiley Online Library before inclusion in an issue. Note there may be a delay after corrections are received before the article appears online, as Editors also need to review proofs. Once the article is published on Early View, no further changes to the article are possible. The Early View article is fully citable and carries an online publication date and DOI for citations.

8. POST PUBLICATION

Access and sharing

When the article is published online:

- The author receives an email alert (if requested).
- The link to the published article can be shared through social media.
- The author will have free access to the paper (after accepting the Terms & Conditions of use, they can view the article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to the article.

Promoting the Article

To find out how to best promote an article, [click here](#).

Article Promotion Support

Wiley Editing Services offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research – so you can help your research get the attention it deserves.

Cover Image Submissions

This journal accepts artwork submissions for Cover Images. This is an optional service you can use to help increase article exposure and showcase your research. For more information,

including artwork guidelines, pricing, and submission details, please visit the **Journal Cover Image page**.

Measuring the Impact of an Article

Wiley also helps authors measure the impact of their research through specialist partnerships with Kudos and Altmetric.

Author Name Change Policy

In cases where authors wish to change their name following publication, Wiley will update and republish the paper and redeliver the updated metadata to indexing services. The journal editorial and production teams will use discretion in recognizing that name changes may be of a sensitive and private nature for various reasons including (but not limited to) alignment with gender identity, or as a result of marriage, divorce, or religious conversion. Accordingly, to protect the author's privacy, we will not publish a correction notice to the paper, and we will not notify co-authors of the change. Authors should contact the journal's Editorial Office with their name change request.

9. EDITORIAL OFFICE CONTACT DETAILS

For queries about submissions, please contact BDIedoffice@wiley.com

Author Guidelines Updated 21 November 2019