UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE

TESE DE DOUTORADO

Avaliação e Associação entre as Diferentes Categorias de Biomarcadores Periféricos relacionados ao comprometimento das Funções Cognitivas e da Funcionalidade em Pacientes Eutímicos com Transtorno Bipolar I / II – Utilizando os testes FAB e FAST.

LUIZ ARTHUR RANGEL CYRINO

Joinville

2022

UNIVERSIDADE DA REGIÃO DE JOINVILLE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE

TESE DE DOUTORADO

Avaliação e Associação entre as Diferentes Categorias de Biomarcadores Periféricos relacionados ao comprometimento das Funções Cognitivas e da Funcionalidade em Pacientes Eutímicos com Transtorno Bipolar I / II – Utilizando os testes FAB e FAST.

LUIZ ARTHUR RANGEL CYRINO

Orientadora: Profª. Dra. Daniela Delwing-de Lima

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor.

Joinville

2022

Catalogação na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

Cyrino, Luiz Arthur Rangel
C997a Avaliação e associação entre as diferentes categorias de biomarcadores periféricos relacionados ao comprometimento das funções cognitivas e da funcionalidade em pacientes eutímicos com transtorno bipolar I / II: utilizando os testes FAB e FAST/ Luiz Arthur Rangel Cyrino; orientadora Dra. Daniela Delwing de Lima. – Joinville: UNIVILLE, 2022.

264 f. : il.

Tese (Doutorado em Saúde e Meio Ambiente – Universidade da Região de Joinville)

1. Transtorno bipolar. 2. Stress oxidativo. 3. Metabolismo energético. I. Lima, Daniela Delwing de (orient.). II. Título.

CDD 616.85

Elaborada por Rafaela Ghacham Desiderato – CRB-14/1437

Termo de Aprovação

"Avaliação e Associação entre as Diferentes Categorias de Biomarcadores Periféricos relacionados ao comprometimento das Funções Cognitivas e da Funcionalidade em Pacientes Eutímicos com Transtorno Bipolar I / II - Utilizando os testes FAST e FAB"

por

Luiz Arthur Rangel Cyrino

Tese julgada para a obtenção do título de Doutor em Saúde e Meio Ambiente, área de concentração Saúde e Meio Ambiente e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente.

Profa. Dra. Daniela Delwing de Lima
Orientadora (UNIVILLE)

Prof. Dr. Luciano Lorenzi
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Daniela Delwing de Lima
Orientadora (UNIVILLE)

Profa. Dra. Gabriela Kozuchovski Ferreira
(UNISOCIESC)

Profa. Dra. Débora Delwing Dal Magro
(FURB)

Profa. Dra. Aliciene Fusca Machado Cordeiro
(UNIVILLE)

Joinville, 04 de março de 2022

“Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
Quem quer passar além do Bojador
Tem que passar além da dor.
Deus ao mar o perigo e o abismo deu,
Mas nele é que espelhou o céu”
(Fernando Pessoa)

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.”
(Isaac Newton)

“Ambas, a religião e a ciência da natureza, envolvem em seu exercício, a afirmação de Deus.”
(Max Plank)

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer e dedicar este trabalho primeiramente aos meus pais, Álvaro e Helga, que apesar de não se encontrarem mais conosco, foram os grandes artífices desta longa jornada, possibilitando-me todas as oportunidades para eu poder chegar até aqui. No início desta caminhada tive uma perda que se mantém presente até hoje no meu coração através de uma imensa saudade. Mãe, este trabalho dedico a você em especial que teve sempre orgulho das minhas vitórias. Seu sofrimento por 5 longos meses não foi em vão. Que Deus em sua infinita bondade cuide de vocês!

Quero muito agradecer à minha querida e paciente esposa Adriana, que suporta minha ansiedade e preocupação com meu trabalho e estudo, mas que nunca deixou de me apoiar nos meus loucos sonhos acadêmicos e profissionais. Tenha certeza Adriana, que te amo muito, e lhe admiro demais pela maravilhosa pessoa que é.

Em especial agradeço a minha orientadora Daniela Delwing-de Lima, mais que uma orientadora, foi uma amiga que acreditou neste imenso projeto construído passo a passo, e o qual com tranquilidade e sabedoria conduziu-me nessa jornada, mostrando sempre uma paixão pela ciência e carinho pela docência, compartilhando seu conhecimento com muita confiança e humildade. Seu futuro será promissor professora Daniela.

Os próximos agradecimentos serão para pessoas muito, mas muito especiais. Sem elas jamais poderia terminar esta tese. À Professora Silvia Ramos, por ter oportunizado a realização dos testes imunológicos no Laboratório de Análises Clínicas da Univille. À Professora Gabriela Kozuchovski Ferreira, por operacionalizar os testes que faltavam no Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos junto a Universidade do Sul de Catarina em Tubarão. Sem eles, este trabalho ficaria incompleto. Ao Dr. Geo Marques e Dr. Luiz Tinti, Diretor Geral e Diretor Técnico do Hospital Psiquiátrico Porto Seguro em Curitiba por terem oportunizado o acesso à muitos pacientes para este trabalho. À Psicóloga Roseni que permitiu a minha presença e o acompanhamento dos pacientes internados nas reuniões clínicas. Quero agradecer também à querida bioquímica e amiga Dra. Rosinete Medeiros, que nos cedeu graciosamente o seu laboratório de análises clínicas para realizarmos a coleta e as separações das células. Isso foi primordial! Seu profissionalismo e ética sempre me surpreendeu. Meu muito obrigada também a toda equipe de profissionais dos laboratórios acima citados, pela ajuda fornecida.

Aos alunos, Oliver, Yasmin, Thayná e Felipe Luis, que trabalharam arduamente para que estes artigos pudessem ser realizados. Sem o trabalho de vocês tudo seria muito mais pesado e difícil. Também quero agradecer as psicólogas, Maria Cecília Tomasi e Claudia Calegari que dedicaram o seu tempo e conhecimento no treino dos alunos acima para a realização dos testes.

Aqui deixo meu profundo e eterno agradecimento aos Drs. Leonardo Polli, Edson Campos e Soraya Dobner, que me ajudaram em um dos momentos mais difíceis da minha vida, e impactou profundamente em todo esse projeto acadêmico, mas que graças ao esforço, conhecimento e principalmente dedicação de todos vocês, estou podendo finalizá-lo. Deus há de recompensá-los. Muito obrigado.

Aos meus filhos, Maurício e Débora, que este trabalho e dedicação pela ciência sirva de inspiração para vocês. Nunca desistam! Á minha querida neta Laura, que ao nascer neste período tão conturbado de pandemia e da minha doença, foi uma luz, trazendo alegria e esperança para todos nós. Amo o seu abraço, minha querida.

Não poderia em nenhum momento deixar de agradecer aos meus pacientes bipolares que de forma voluntária e generosamente aceitaram participar desta pesquisa, e com alegria vieram para os testes e a coleta de sangue. Agradeço-os profundamente. Sem vocês esta pesquisa seria inviável.

Agradeço à UNIVILLE em especial através da Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Professora Marta Jussara Cremer, por ter me ajudado neste período tão conturbado através da sua compreensão e também através da secretária da Pós-Graduação, Patrícia Pilz. Obrigado aos professores avaliadores: Gabriela K. Ferreira, Aliciene Machado e Débora Del-Magro, pela disponibilidade em participar da avaliação deste trabalho. Á PPGSMA da UNIVILLE e ao FAP (Fundo de Apoio à pesquisa) pelo apoio financeiro. A todos, meus sinceros agradecimentos.

Finalmente agradeço profundamente Deus, àquele a quem tudo devo. Agradeço-lhe diariamente por ter me proporcionado a vida, oportunizando-me conhecer a medicina e à docência; pilares estes, que me mantem realizado e cheio de objetivos para desenvolver uma sociedade melhor.

SUMÁRIO

PARTE I 1
RESUMO 2
ABSTRACT 3
Lista de abreviaturas 4
1. INTRODUÇÃO 7
1.1 Transtorno Bipolar 7
1.2 Fisiopatologia, Neuroinflamação e Neuroprogressão no Transtorno Bipolar 9
1.3 Biomarcadores periféricos no Transtorno Bipolar 13
1.4 Funções cognitivas e funcionalidade 16
1.5 Justificativa 21

2. OBJETIVOS 22
a. Objetivo geral 22
b. Objetivos específicos 22

PARTE II 25
3. MATERIAIS E MÉTODOS 26
3.1. Aspectos Éticos 26
3.2. Participantes e Triagem 26
3.3. Critérios de inclusão 28
3.4. Dados Demográficos, Clínicos e Farmacológicos 29
3.5. Testes Psicométricos 29
3.6. Ensaios Bioquímicos 30
3.6.1. Coleta de sangue periférico e separação do plasma, do soro e isolamento das células 30
3.6.2.Protocolo para dosagem sérica do, BDNF, GDNF, IL-6, IL-10 e TNF-α 30
3.6.3. Protocolo para dosagem nos eritrócitos das enzimas GSH-Px, SOD e CAT 31
3.6.4. Protocolo para dosagem no plasma do TBA-RS 32
3.6.5. Protocolo para dosagem em leucócitos das enzimas do metabolismo energético no ciclo do Ácido Tricarboxílico 33
3.6.6. Protocolo para dosagem em leucócitos das enzimas do metabolismo energético na Cadeia de Transporte de Elétrons 33

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA 34
4.1. Análise estatística para o tamanho da amostra e tamanho de efeito 34
4.2. Análise estatística dos testes FAB e FAST 34
4.3. Análise estatística dos testes bioquímicos 35

5. ARTIGOS CIENTÍFICOS 36
5.1. ARTIGO 1 - *Concepts of Neuroinflammation and Their Relationship with Impaired Mitochondrial Functions in Bipolar Disorder*. **Artigo publicado na revista -** ***Frontiers in Behavioral Neuroscience*** **em Fev. 2021** 37

5.2. **ARTIGO *2* -** *Bioquímica Mitocondrial e Estresse Oxidativo no Transtorno Bipolar: Novos Horizontes.* **Artigo publicado na revista - *Revista Contexto & Saúde* em Jun. 2020 .....** 56

5.3. **ARTIGO 3 -** *Assessment of different domain impairments in Cognitive Functions and Functionalities found in Euthymic Patients with Bipolar Disorder I / II – during the early and Late phases of the disease, using the FAB and FAST tests.* **Artigo publicado na revista – *International Journal of advanced Engineering Research and Science - em Jun. 2021……*** 70

5.4 **ARTIGO 4 -** *Effect of Cytokines and Neurotrophins in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease.* **Artigo publicado na revista – *EC Neurology em 27 de janeiro de 2022*…….....** 104

5.5 **ARTIGO 5 -** *Can Mood-Stabilizing Agents Increase the Activity of Complexes I and II of the Electron Transport Chain and the Level of Two Tricarboxylic Acid Cycle Enzymes in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease?* **Artigo em revisão na reivista** – ***Psychiatry Clinical Neuroscience desde dez de 2021*.....** 122

PARTE III **141**

6. RESULTADOS …… 142

6.1 Avaliação dos níveis séricos de fatores neurotróficos..... 143

6.2 Avaliação dos níveis dos mediadores inflamatórios..... 144

6.3 Avaliação dos níveis dos mediadores do estresse oxidativo em eritrócitos..... 145

6.4 Avaliação da atividade das enzimas do ciclo do ácido tricarboxílico em leucócitos..... 147

6.5 Avaliação da atividade das enzimas do metabolismo energético na cadeia de transporte de elétrons em leucócitos 148

PARTE IV..... 150

7. DISCUSSÃO..... 151

7.1 Discussão dos resultados dos mediadores inflamatórios e substâncias Neuroprotetores..... 156

7.2 Discussão dos resultados dos mediadores relacionados ao estresse oxidativo..... 166

7.3 Discussão dos resultados dos mediadores relacionados ao metabolismo energético..... 178

7.4 Discussão final..... 190

8. CONCLUSÕES..... 198

PARTE V **201**

10. REFERÊNCIAS..... 202

11. ANEXOS..... 248

11.1 Parecer Consubstanciado do CEP 249

12.2 Declaração de Instituição co-participante 252

11.3 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE..... 253

11.4 Escala de Avaliação de Young..... 254

11.5 Escala de Avaliação de Hamilton- 17..... 257

11.6 Bateria de Avaliação Frontal - FAST..... 260

11.7 Bateria de Avaliação Frontal – FAB..... 261
11.8 Permissão para utilização da figura 1..... 262
11.9 Entrevista Clínica Estruturada para os Transtornos do DSM-5: (CID-5-CV). 263

APRESENTAÇÃO

A presente tese de doutorado está organizada em cinco partes, conforme a seguir:

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

Parte II: Materiais e Métodos; Análise Estatística

Parte III: Artigos científicos publicados e Resultados Bioquímicos

Parte IV: Discussão e Conclusões.

Parte V : Referências e Anexos

Os trabalhos que compõem esta tese foram desenvolvidos entre os anos de 2018 e 2021 no Hospital Psiquiátrico Porto Seguro – Curitiba - PR. e em três laboratórios: 1- Laboratório de Práticas Farmacêuticas da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, sob orientação do Profª. Dra Daniela Delwing- de Lima; 2- no Laboratório de Análises Clínicas da UNIVILLE, sob orientação do Profª. Dra Silvia Ramos e 3 - no Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos sob orientação do Profª. Dra. Gabriela Kozuchovski Ferreira junto a Universidade do Sul de Catarina em Tubarão. Este estudo foi apoiado pela UNIVILLE e pelo Fundo de Apoio à Pesquisa (FAP).

PARTE I

Resumo, abstract, introdução e objetivos

RESUMO

Pesquisas sugerem que o Transtorno Bipolar (TB) esteja associado a uma toxicidade sistêmica, representada por alterações periféricas e no sistema nervoso central (SNC) a partir de marcadores de inflamação, estresse oxidativo, neurotrofinas e alterações no metabolismo energético, a qual parece estar associada aos episódios de humor e à progressão da doença levando a prejuízos sistêmicos e na neuroplasticidade, podendo assim refletir-se nas funções cognitivas e na funcionalidade. Os artigos apresentados nesta tese tiveram como objetivo revisar estas alterações e explorar possíveis mecanismos responsáveis por estes achados, com enfoque na neuroinflamação e no metabolismo energético no TB. O primeiro artigo (capítulo 1), é uma revisão da literatura sobre os possíveis biomarcadores acima citados relacionando-os aos episódios de mania, depressão e eutimia no TB, e focando no impacto da toxicidade sistêmica e os possíveis mecanismos subjacentes a ela. No segundo artigo (capítulo 2), também uma revisão, enfatizamos principalmente a mitocôndria e os processos energéticos envolvidos no TB. No terceiro artigo (capítulo 3), nós focamos em avaliar o desempenho de dois preditores-chave no TB (cognição e funcionalidade) em 50 pacientes bipolares em eutimia, dividindo-os em dois subgrupos com 25 pacientes, (≤ 3 anos, e com ≥ 10 anos de diagnóstico, a partir do primeiro episódio de mania), comparando-os com 25 pacientes controles. Com isso, buscamos estudar e correlacionar as possíveis alterações produzidas pela neuroinflamação nas funções cognitivas frontais e o impacto destas, na funcionalidade diária. Para tanto, foram utilizados os testes — Frontal Assessment Battery (FAB) para avaliar a cognição, e Functioning Assessment Short Test (FAST), para avaliar a funcionalidade. As características clínicas e sociodemográficas foram analisadas usando ANOVA de uma via ou teste Qui-quadrado. No sentido de verificar a correlação entre os testes FAB e FAST, foi utilizado o teste de correlação de Spearman. Os resultados de ambos os subgrupos de pacientes eutímicos tiveram escores no teste FAST (≤ 3 anos (20,63 ± 8,21), e ≥ 10 anos (27,80 ± 12,50) do início da doença), mais altos que no grupo controle (9,80 ± 5,94), **($p < 0,001$).** As alterações ocorreram em todos os domínios, tanto em pacientes com ≤ 3 anos, como com ≥ 10 anos do início da doença, apresentado comprometimento moderado (pontuação 21–40). Em relação ao teste FAB observou-se escores mais baixos em quatro domínios: conceituação, sensibilidade à interferência, controle inibitório e série motora ***($p < 0,05$).*** Também, a correlação de Spearman entre os testes FAB e FAST mostrou intensidade moderada **($r^2 = -0,539$).** A partir destes resultados observou-se o impacto do TB na funcionalidade e nas funções cognitivas frontais, nos diferentes tempos a partir do início da doença, demonstrando prejuízo nas funções sociais, ocupacionais e cognitivas. Em relação aos resultados dos mediadores relacionados a neuroinflamação, foram observados um aumento da neurotrofinas BDNF, no soro tanto de pacientes com ≤ 3 anos (16,9 ± 1,77) como de ≥ 10 anos (16,7 ± 1,70) do início da doença em relação ao grupo controle (15,6 ± 2,09), **($p < 0,01$).** Por outro lado, não foram observadas alterações nos mediadores pró e anti-inflamatórios (IL-6; TNF-α; IL-10), nem no fator neurotrófico derivado da glia (GDNF). Outro grupo de mediadores avaliados foram relacionados ao estresse oxidativo. Foi observado um aumento nos parâmetros da substância reativas ao ácido tiobarbitúricos (TBA-RS) no plasma tanto de pacientes com ≤ 3 anos (3,18 ± 1,17) como de ≥ 10 anos (3,01 ± 1,03) do início da doença, em relação ao grupo controle (1,62 ± 0,28), **($p < 0,0001$).** Também foi observado um aumento da atividade da enzima catalase (CAT) no plasma, tanto de pacientes com ≤ 3 anos (8,10 ± 4,18) como de ≥ 10 anos (9,41 ± 4,95) do início da doença, em relação ao grupo controle (3,47 ± 0,77), **($p < 0,0001$).** Por outro lado, não foram observadas alterações nas atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutationa peroxidase (GSH-Px). Assim, podemos sugerir que mesmo em pacientes bipolares eutímicos, ocorre um aumento do estresse oxidativo (EO) observado a partir da peroxidação lipídica e aumento da enzima antioxidante da CAT. Finalmente o último grupo de biomarcadores avaliados, estavam associados à função energética mitocondrial, relacionados a duas enzimas do ciclo do ácido tricarboxílico (ATC) (citrato sintase e succinato desidrogenase) e a atividade dos Complexos mitocondriais (I, II) em leucócitos de pacientes bipolares eutímicos. Não foram observadas alterações na atividade das eenzimas succinato desidrogenase e citrato sintase do ciclo do ATC**,** contudo os Complexos mitocondriais apresentaram alterações significativas. A atividade do Complexo I teve aumento significativo tanto nos pacientes com ≤ 3 anos (461,80 ± 162,76) como de ≥ 10 anos (561,21 ± 328,13) do início da doença, em relação ao grupo controle (335,39 ± 167,64) **($p < 0,005$).** A atividade do Complexo II teve aumento significativo no grupo de pacientes com ≥ 10 anos em relação aos pacientes com ≤ 3 anos do início da doença, e em relação ao grupo controle **($p < 0,01$).** Assim, os pacientes eutímicos apresentaram um aumento da atividade do Complexo I e II, principalmente no subgrupo ≥ 10 anos, sugerindo haver uma melhora na atividade destes Complexos devido ao uso de medicações estabilizadoras.

Palavras chaves: Transtorno Bipolar, Teste Fab, Teste Fast, Estresse Oxidativo, Cadeia De Transporte De Elétrons, Neuroinflamação, Neuroprogressão.

ABSTRACT

Research suggests that Bipolar Disorder (BD) is associated with systemic toxicity, represented by peripheral and central nervous system (CNS) changes from markers of inflammation, oxidative stress, neurotrophins and changes in energy metabolism, which seems to be associated to mood episodes and disease progression leading to systemic damage and neuroplasticity, which may therefore reflect on cognitive functions and functionality. The articles presented in this thesis aimed to review these changes and explore possible mechanisms responsible for these findings, focusing on neuroinflammation and energy metabolism in BD. The first article (chapter 1), is a literature review on the possible biomarkers mentioned above, relating them to episodes of mania, depression, and euthymia in BD, and focusing on the impact of systemic toxicity and the possible mechanisms underlying it. In the second article (chapter 2), also a review, we mainly emphasize the mitochondria and the energetic processes involved in BD. In the third article (chapter 3), we focused on evaluating the performance of two key predictors in BD (cognition and functionality), in 50 euthymic bipolar patients, dividing them into two subgroups with 25 patients, (≤ 3 years, and with ≥ 10 years of diagnosis, from the first episode of mania), and comparing them with 25 control patients. Thus, we strived to study and correlate the possible changes produced by neuroinflammation in frontal cognitive functions and their impact on daily functionality. Therefore, the tests - Frontal Assessment Battery (FAB) were used to assess cognition, and the Functioning Assessment Short Test (FAST), to assess functionality. Clinical and sociodemographic characteristics were analyzed using a one-way ANOVA or Chi-square test. To verify the correlation between the FAB and FAST tests, the Spearman correlation test was used. The results of both subgroups of euthymic patients were as follows: FAST test scores (≤ 3 years (20.63 ± 8.21), and ≥ 10 years (27.80 ± 12.50) from disease onset), being higher than in the control group (9.80 ± 5.94), **($p < 0.001$)**. Changes occurred in all domains, in both bipolar groups ≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease onset, with moderate impairment (score 21-40). Regarding the FAB test, lower scores were observed in four domains: conceptualization, sensitivity to interference, inhibitory control, and motor series **($p < 0.05$)**. Also, the Spearman's correlation between the FAB and FAST tests showed moderate intensity **($r^2 = -0.539$).** From these results, we observed the impact of BD on functionality and frontal cognitive functions, at different times during the evolution of the disease, demonstrating impairment in social, occupational, and cognitive functions. Regarding the results of neuroinflammation-related mediators, an increase in neurotrophin BDNF was observed in the serum of both BD groups ≤ 3 years (16.9 ± 1.77) and ≥ 10 years (16.7 ± 1.70) of the disease onset, whereas in the control group the results were (15.6 ± 2.09), **($p < 0.01$).** On the other hand, no alterations were observed in the pro and anti-inflammatory mediators (IL-6; TNF-α; IL-10), nor in the glial-derived neurotrophic factor (GDNF). Another group of evaluated mediators was related to oxidative stress. We observed an increase in plasma TBA-RS levels in both bipolar groups, ≤ 3 years (3.18 ± 1.17), and ≥ 10 years (3.01 ± 1.03) since the disease onset, compared to the control group (1.62 ± 0.28), **($p < 0.0001$).** An increase in CAT enzyme activity in plasma was also observed in both of the bipolar patient groups ≤ 3 years (8.10 ± 4.18), and ≥ 10 years (9.41 ± 4.95) since the disease onset, compared to the control group (3.47 ± 0.77),**($p < 0.0001$)**. On the other hand, no alterations were observed in the SOD and GSH-Px enzymes activities. Thus, we can suggest that even bipolar patients who are in an euthymic phase, could present an increase in oxidative stress, observed through the lipid peroxidation, and an increase in the antioxidant CAT activity. Finally, the last group of biomarkers that were evaluated, were associated with mitochondrial energy functions, related to two enzymes of the tricarboxylic acid (TCA) cycle (citrate synthase and succinate dehydrogenase), and the activity of mitochondrial complexes (I, II), in leukocytes of euthymic bipolar patients. No changes were observed in the level of succinate dehydrogenase and citrate synthase enzymes of the TCA cycle**,** however, the mitochondrial complexes showed significant changes. Complex I activity had a significant increase in both patients ≤ 3 years (461.80 ± 162.76) and ≥ 10 years (561.21 ± 328.13) since disease onset, compared to the control group (335 , 39 ± 167.64) **($p < 0.005$).** Complex II activity had a significant increase in the group of patients aged ≥ 10 years compared to patients aged ≤ 3 years at disease onset and compared to the control group **($p < 0.01$).** Thus, euthymic patients showed an increase in the complex I and II activity levels, especially in the ≥ 10 years group, suggesting that there was an improvement in the activity of these complexes, due to the use of stabilizing medications.

Key words: Bipolar Disorder; FAB test; FAST test; Oxidative Stress; Eletron Transport Chain, Neuroinflammation, Neuroprogression.

LISTA DE ABREVIATURA

ATC	ciclo do ácido tricarboxílico (do inglês *Tricarboxylic acid cycle)*
BDNF	fator neurotrófico derivado do encéfalo (do inglês *brain-derived neurotrophic factor*)
BHE	barreira hematoencefálica
CAT	catalase
CTE	cadeia de transporte de elétrons (do inglês *eletron transport chain)*
ERN	espécies reativas de nitrogênio
ERO	espécies reativas de oxigênio
$FADH_2$	dinucleotídeo de flavina e adenina (do inglês *Flavin adenine dinucleotide*)
FE	funções executivas
GDNF	fator neurotrófico derivado da glia (do inglês *glial-derived neurotrophic factor*
GSH-Px	glutationa peroxidase
GSSG	glutationa oxidada
HAM-D 17	escala de avaliação da depressão de Hamilton – 17 (do inglês *Hamilton Depression Rating Scale – 17*)
HPA	hipotálamo-pituitária-adrenal
IDO	indoleamina 2-3 dioxigenase
IL	interleucina
IL-1RA	antagonista do receptor de interleucina endógeno
IFN	interferon
IGF-1	fator de crescimento insulina símile-1 (do inglês *insulin-like growth factor-1*)
LOOH	hidroperóxidos
LOO-	peroxil-lipídeo
NADH	dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (do inglês *Nicotinamide adenine dinucleotide)*

NDUFS1 NADH desidrogenase [ubiquinona] ferro-enxofre proteína 1 (do inglês *NADH: Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S1*)

NDUFS7 NADH desidrogenase [ubiquinona] ferro-enxofre proteína 7 (do inglês *NADH: Ubiquinone Oxidoreductase Core Subunit S7*)

NDUFV1 NADH desidrogenase [ubiquinona] flavoproteína 1 (*do inglês NADH: dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1*)

NDUFV2 NADH desidrogenase [ubiquinona] flavoproteína 2 (do inglês *NADH: dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2*)

NGF fator de crescimento neural (do inglês *nerve growth factor*)

NF-κB fator nuclear Kappa B (do inglês *factor nuclear kappa B)*

O2 oxigênio

O2•- radical superóxido

OH• radical hidroxila

ONOO- ânion peroxinitrito

PCR proteína C reatitva

RE retículo endoplasmático

RL radicais livres

ROO- peroxil

SNC sistema nervoso central

SOD superóxido dismutase

TB transtorno bipolar

TBA-RS substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA ciclo do ácido tricarboxílico (do inglês *Tricarboxylic acid cycle)*

TGF-ß fator de transformação do crescimento beta (do inglês: *transforming growth factor beta*

TNF fator de necrose tumoral (do inglês *tumor necrosis factor)*

TNFR1 receptor do fator de necrose tumoral tipo 1 (do inglês *tumor necrosis factor receptor tipe 1)*

TrkB receptor de tropomiosina quinase B (do inglês*: Tropomyosin receptor kinase B)*

YMRS escala de avaliação da mania de Young (do inglês *Young Mania Rating Scale)*

1. INTRODUÇÃO

1.1. Transtorno Bipolar

O Transtorno Bipolar (TB) é uma doença crônica e grave associada a uma alta taxa de comorbidades clínicas. Em uma recente meta-análise epidemiológica de 85 estudos, incluindo 67.373 pacientes adultos de 44 países, observou-se uma prevalência do espectro bipolar ao longo da vida de 1,02%, apresentando-se relativamente estável ao longo de três décadas **(Moreira *et al.*, 2017).** Esta patologia apresenta mudanças do humor de forma crônica e recorrente, caracterizando-se por episódios cíclicos de depressão e mania e estes podem ser intercalados com períodos de estabilidade do humor (eutimia), onde nela há a remissão dos sintomas, e o paciente volta a apresentar um humor estável. O diagnóstico é realizado a partir da manifestação de pelo menos um episódio maníaco ou hipomaníaco durante a vida, sendo que a presença de episódio maníaco confere o diagnóstico de TB tipo I, enquanto a presença de episódio hipomaníaco confirma o diagnóstico de TB tipo II, os dois principais subtipos de diagnósticos do TB **(Belmaker, 2004; Price e Marzani-Nissen, 2012).** Em outra meta-análise, observou-se uma prevalência ao longo da vida de 1,1% para TB I e 1,2% para TB II **(Clemente *et al.*, 2015).**

Os episódios de mania caracterizam-se por um humor elevado (expansivo) ou eufórico (irritável) com duração de no mínimo uma semana, associado a três (ou mais) dos seguintes sintomas: aceleração do pensamento e fuga de ideias, hiperatividade, agressividade, redução da necessidade de sono, impulsividade, taquilalia, distratibilidade e grandiosidade, sintomas estes que prejudicam o julgamento dos pacientes, e coloca-os em risco, assim como aqueles a sua volta. Já nos episódios de depressão bipolar ocorre a presença durante um período de

pelo menos duas semanas, de cinco (ou mais) dos seguintes sintomas: humor deprimido, diminuição da velocidade de pensamento e da fala, autoestima baixa, perda de interesse em situações ou atividades que antes lhe eram prazerosas, alterações no apetite e no sono, isolamento social, retardo psicomotor, e ideação suicida **(Belmaker, 2004; Price e Marzani-Nissen, 2012).** Porém, a gravidade das manifestações clínicas, durante episódios de mania ou depressão, podem variar consideravelmente entre os pacientes, quando muitos deles, durante a evolução da doença, podem apresentar um alto risco de suicídio ou experimentar episódios psicóticos **(Goodwin e Jamison, 2007; Hoertel *et al*., 2013; Sigitova *et al*., 2017).** Em consequência à estas mudanças no humor observam-se frequentemente prejuízos na capacidade funcional, na cognição e na qualidade de vida no dia a dia **(Geddes e Miklowitz, 2013).**

O tratamento do TB baseia-se no manejo dos episódios agudos (buscando levar um paciente em mania ou depressão à remissão dos sintomas — eutimia). Por outro lado, no tratamento crônico, busca-se a manutenção do estado eutímico para prevenir a ocorrência de novos episódios, reduzindo os sintomas subsindrômicos e aumentando a funcionalidade dos pacientes. Dentre os fármacos utilizados inclui-se o lítio (estabilizador de humor mais comumente utilizado), o ácido valproico, antipsicóticos atípicos, lamotrigina, topiramato, gabapentina e a carbamazepina. Além dos efeitos adversos e a baixa eficácia em alguns pacientes, o tratamento pode ser complexo, já que fármacos que tratam a depressão podem precipitar a mania ou hipomania bem como tratamentos que reduzem os sintomas maníacos podem causar episódios de depressão **(Geddes e Miklowitz, 2013).** Assim, diversas pesquisas têm-se focado em novas terapias, desenvolvendo novas moléculas que atuem em vias relacionadas aos episódios de humor.

1.2. Fisiopatologia, Neuroinflamação e Neuroprogressão no Transtorno Bipolar [1]

A fisiopatologia do TB é complexa, multifatorial e não é totalmente compreendida, influenciada de forma consistente por fatores genéticos e ambientais, como, por exemplo, o estresse crônico **(Goodwin e Jamison, 2007; Clemente *et al*., 2015).** Com relação à genética, a taxa de concordância no TB é significativamente maior entre gêmeos monozigóticos do que gêmeos dizigóticos, indicando uma influência da expressão gênica importante **(Barnett e Smoller, 2009).** Em outro estudo foi demonstrado que o TB compartilha características patogênicas com uma ampla variedade de outras doenças, incluindo metabólicas, cardiovasculares e doenças neurodegenerativas **(Furman *et al*., 2019).**

Pesquisas recentes demonstram que a partir dos múltiplos episódios de humor, ocorrem alterações neurológicas com modificações na neurotransmissão, neuroplasticidade, sinalização de fatores de crescimento e metabolismo, bem como no estresse oxidativo (EO) e apoptose neuronal **(Gama *et al*., 2013; Sigitova *et al*., 2017),** alterando assim o desenvolvimento do cérebro, e levando a neuroinflamação **(Schloesser *et al*., 2008; Berk *et al*., 2011; Szepesi *et al*., 2018).** Todas essas anormalidades neuro celulares do TB podem resultar em alterações morfológicas grosseiras, como redução dos volumes pré-frontais e hipocampais levando a uma reorganização dos circuitos cerebrais resultando em déficits cognitivos, emocionais e funcionais **(Salthouse, 2011; Szepesi *et al*., 2018).** Outros estudos expressam que a gravidade do TB e a perda de resposta ao tratamento se correlacionam com o número de episódios anteriores **(Berk *et al*., 2011; Borges *et al*., 2019).**

Desta forma, as mudanças estruturais e bioquímicas progressivas nos estágios prodrômicos e iniciais da doença, irão evoluir para estágios mais avançados produzindo uma

[1] *Uma revisão detalhada sobre a fisiopatologia, neuroprogressão e neuroinflamação do transtorno bipolar encontra-se no artigo pertencente ao* ***Anexo 1*** *- Cyrino, L. A. R., Delwing-de Lima, D., Ullmann, O. M., & Maia, T. P. (2021). Concepts of Neuroinflammation and Their Relationship with Impaired Mitochondrial Functions in Bipolar Disorder. Frontiers in Behavioral Neuroscience, 15.*

lenta evolução do processo clínico denominado neuroprogressão. Assim, o típico paciente bipolar exibe um declínio gradativo no comportamento e nas funções cognitivas apesentando prejuízos na funcionalidade e cognição **(Rosa *et al*., 2012),** com uma resposta mais fraca ao tratamento, levando a taxas maiores de comorbidades clínicas e um risco aumentado de suicídio (**Hawton *et al*., 2005; Ketter *et al*., 2006).** Esta lenta progressão, impede o diagnóstico precoce e consequentemente o início rápido do tratamento adequado. Assim, tanto o diagnóstico como o esquema terapêutico, podem levar vários anos, resultando em prejuízo clínico, cognitivo e funcional substancial **(Berk *et al*., 2011; Grande *et al*., 2012; McEwen, 2017).**

Conforme descrito acima, tais alterações bioquímicas e estruturais tornam-se mais pronunciadas após múltiplos episódios de humor (mania ou depressão). Uma hipótese para explicar essas fortes mudanças do estado de humor a partir do dano progressivo/cumulativo é chamada teoria da carga alostática, **(McEwen e Wingfield, 2003; Vieta *et al*., 2013).** Essa teoria busca entender como as mudanças cumulativas associadas às doenças psiquiátricas se refletem na progressão da doença **(Kapczinski *et al*., 2008a).** Nesta teoria, o organismo busca alcançar a estabilidade, ou homeostase, através de mudanças fisiológicas ou de comportamento. Para isso o organismo desenvolve mecanismos adaptativos através de alterações fisiológicas vitais para alcançar o seu objetivo que é a estabilidade. Contudo, a alostase pode produzir efeitos mal-adaptados na plasticidade cerebral, assim como nos sistemas metabólico, imune e cardiovascular **(McEwen e Gianaros, 2011).** No entanto, se esses processos se tornarem extremos ou ineficientes, as respostas do corpo diminuem e os processos se acumulam para que mais sistemas regulatórios sejam comprometidos (carga alostática), prejudicando a plasticidade neuronal e a neurotransmissão **(McEwen, 2000; Ganzel *et al*., 2010; Rios, 2014).**

Neste contexto, com a progressão da doença, ocorre um aumento na frequência e gravidade dos episódios de mania e depressão ao longo dos anos, levando ao aumento no número

de comorbidades médicas e psiquiátricas associadas, com um desequilíbrio entre fatores pró e anti-inflamatórios, redução das neurotrofinas e aumento do EO. Assim, o TB pode ser concebido como uma doença inflamatória multissistêmica, representado por alterações em biomarcadores séricos **(Sylvia *et al*., 2015),** que poderiam funcionar como indicadores de toxicidade celular nestes pacientes, onde as alterações fisiopatológicas periféricas são componentes importantes **(Soreca *et al*., 2009; Rowland *et al*., 2018).**

Vale ressaltar que marcadores sistêmicos já foram implicados no TB como mediadores da alostase **(Juster *et al*., 2013).** Entre os mediadores da alostase e da neuroprogressão, destacam-se os glicocorticoides. Estes hormônios promovem adaptação dinâmica do organismo principalmente através da regulação da disponibilidade de compostos energéticos, entre outros efeitos. Quando em excesso e de forma crônica, podem causar disfunções em compartimentos celulares essenciais, tais como as mitocôndrias, produzindo um aumento do EO e de marcadores pró-inflamatórios assim como a diminuição de fatores neurotróficos **(Cyrino *et al*., 2020)[2].**

Dentro deste contexto, o TB está associado às mitocôndrias disfuncionais, levando a uma importante perturbação metabólica em neurônios e células gliais, células estas que demandam muita energia. De fato, a disfunção mitocondrial envolvendo a interrupção da cadeia de transporte de elétrons (CTE) é considerada a principal causa de EO crônico no TB, resultando em um dano aos lipídios da membrana celular, proteínas e DNA, que agrava ainda mais o EO. Tudo isso, cria um ciclo patogênico perpetuante contribuindo para um processo de neuroinflamação crônica.

Entretanto, estes dados não explicam como estas mudanças bioquímicas e fisiopatológicas se correlacionam com alterações cerebrais. Uma das hipóteses levantadas seria que a plasticidade neural é sensível aos danos sistêmicos produzindo assim alterações no funcionamento das células

2 *Uma revisão detalhada sobre a bioquímica mitocondrial e estresse oxidativo no transtorno bipolar encontra-se no artigo pertencente ao* ***Anexo 2;*** *Cyrino, L. A. R., Lima, D. D.- de, Ullmann, O. M., Maia, T. P., & Sardo, A. C. (2020).: Novos Horizontes. Revista Contexto &Amp; Saúde, 20(39), 6–18*

neuronais e gliais, refletindo-se especialmente nas sinapses e em particular na formação e expressão dos espinhos dendríticos, assim como em diversos sistemas de neurotransmissão **(McEwen e Gianaros, 2011).** Também, a neuroinflamação através dos estados pro-oxidativos e apoptóticos, poderiam produzir mudanças na permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), produzindo um aumento da permeabilidade para substâncias pró-inflamatórias do sangue periférico, o que poderia levar á uma ativação microglial e causar danos neurais **(Gigante *et al*., 2011; Rybakowski *et al*., 2013).** Associado a estas pesquisas, a descoberta recente de **Louveau *et al*.** (2015) relacionado a estruturas similares aos vasos linfáticos nas meninges reforça a relação do SNC e o sistema imune periférico. Assim, a maneira como iremos entender a interação neuro-imune nas doenças mentais e a relação entre as alterações fisiopatológicas centrais e periféricas dos transtornos mentais irá modificar **(Patel e Frey, 2015).** Desta forma, acredita-se que esta toxicidade observada sistemicamente possa causar alterações celulares. Isso foi demonstrado em um importante estudo realizado por **Herberth *et al*., (2011**), onde foi observado uma diminuição da viabilidade de células sanguíneas periféricas de indivíduos saudáveis, após estas receberem o soro de pacientes bipolares, cuja expressão sérica apresentava alterações na expressão de proteínas pro-/anti-inflamatórias.

A análise de um conjunto de biomarcadores (marcadores inflamatórios, EO, neurotrofinas e do metabolismo energético) mostrou que pacientes com TB nas fases agudas da doença, têm uma taxa de toxicidade sistêmica significativamente maior do que controles saudáveis, mas menor do que pacientes com sepse **(Pfaffenseller *et al*., 2013).** Além disso, estes biomarcadores acima citados, apresentam diferenças de concentrações significativas entre pacientes em estágios iniciais e tardios da doença **(Strakowski *et al*., 2002; Kauer-Sant'Anna *et al*., 2009; Andreazza *et al*., 2009; Pfaffenseller *et al*., 2012; Panizzutti *et al*., 2015).** Com base nestas observações, um modelo de estadiamento tem sido proposto

para o TB **(Kapczinski *et al.*, 2009a; 2009b; Vieta *et al.*, 2011),** considerando variáveis clínicas, comorbidades, cognição/funcionalidade e biomarcadores no período de remissão. Desse modo, compreender os mecanismos fisiopatológicos sistêmicos que contribuem para a disfunção resultante de múltiplos episódios de humor do TB e identificar as vias associadas aos mediadores alostáticos envolvidos nestes processos fisiopatológicos podem ser importantes para melhorar nossa compreensão da atividade da doença.

1.3. Biomarcadores e Transtorno Bipolar

As evidências biológicas acima discutidas sugerem alterações em marcadores periféricos no TB, especialmente durante os episódios de humor. A avaliação destes biomarcadores tem sido usualmente realizada de maneira individual, contudo tem se observado que estes parâmetros isoladamente, são insuficientes para compreender distúrbios complexos. Estes diferentes biomarcadores podem estar associados tanto à atividade da doença, quanto à neuroprogressão, indicando se a doença está ativa ou em remissão. Conforme mencionado anteriormente, episódios agudos no TB têm sido associados à presença de uma toxicidade sistêmica, a qual sugere-se que esses efeitos possam ser cumulativos, sendo sutis após os primeiros episódios, porém mais intensos após múltiplos episódios **(Magalhães *et al.*, 2011; Grande *et al.*, 2012).** Portanto, as disfunções tanto sistêmicas como neurais que se instalam progressivamente após os múltiplos episódios, poderiam ser consideradas estados cumulativos de carga alostática no TB deixando o paciente mais suscetível a novos estressores e, assim, também a novos episódios, completando um ciclo de progressão da doença **(Kapczinski *et al.*, 2008b)**. Diversos estudos realizados previamente avaliaram diferentes grupos de biomarcadores simultaneamente, a partir de um conjunto de alvos relacionados ao EO, neurotrofinas, inflamação e metabolismo energético, observando-se

alterações no TB em diferentes estágios da doença (precoce e tardia). Foram observadas correlações significativas entre alguns biomarcadores. Estudos demonstraram que pacientes em episódios maníacos ou depressivos apresentaram toxicidade sistêmica aumentada quando comparados a pacientes eutímicos e controles, mas inferior à toxicidade apresentada por pacientes com processos inflamatórios mais intensos no organismo **(Kapczinski *et al*., 2009a; Kapczinski *et al*., 2011, Pfaffenseller *et al*., 2013; Mwangi *et al*., 2016; Muneer *et al.*, 2016; Sigitova *et al.*, 2017).**

Assim, apesar da psiquiatria necessitar de biomarcadores confiáveis e acessíveis, que facilitem o diagnóstico de forma precoce, estes ainda são insuficientes e caem em cerca de três categorias promissoras: 1- genética, 2- descobertas de imagens e 3 - níveis de metabólitos de moléculas. Neste último grupo se encontram dosagens periféricas de diversas substâncias oriundas de células neuronais e gliais tendo como alguns exemplos: 1 - as neurotrofinas: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF); Fator Neurotrófico Derivado da Glia (GDNF); 2 - as citocinas pró e anti-inflamatórias: Interleucina-6 (IL-6); Interleucina-10 (IL-10); e o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-α); 3 - marcadores relacionadas ao EO: atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa peroxidase (GSH-Px), e as Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBA-RS); 4 - marcadores de disfunção do ciclo do ATC tais como (Citrato Sintase, Succinato Desidrogenase); e por último o grupo 5 - as Proteínas da CTE (Complexos I, II) **(Grande *et al*., 2014; De Sousa *et al*., 2015b; Scaini *et al*., 2016; Cyrino *et al*., 2020).** Estes marcadores listados acima (categoria 3 – níveis de metabólitos de moléculas) serão avaliados no nosso trabalho, permitindo uma maior compreensão da fisiopatologia do TB e da neuroinflamação. Para maior aprofundamento da relação destes biomarcadores citados acima com o TB **[*ver as revisões no artigo 1 e 2*].**

Destes biomarcadores citados, observamos que aqueles relacionados com o grupo 4 - marcadores de disfunção do ciclo do ácido tricarboxílico (ATC) tais como (Citrato Sintase, Succinato Desidrogenase); e do grupo 5 - as proteínas da CTE (Complexos I, II), foram os elementos químicos conjuntamente com a estrutura mitocondrial, os menos estudados. Apesar dos poucos estudos, já há evidências que sugerem um papel importante da disfunção mitocondrial no TB, produzindo um metabolismo energético alterado, com mudanças nas enzimas da CTE, níveis alterados do cálcio citoplasmático, e alterações na ativação de genes mitocondriais. O influxo de cálcio do citosol controla a taxa de produção mitocondrial de ATP. O cálcio intramitocondrial ativa quatro desidrogenases acopladas ao ciclo do ATC: citrato sintase, piruvato desidrogenase, isocitrato desidrogenase e α-cetoglutarato desidrogenase. Além disso, a captação de cálcio modula o perfil espacial e temporal da sinalização intracelular de cálcio, regulando a motilidade e morfologia mitocondrial, podendo levar a morte celular **(Hoppe, 2010; Scaini e*t al.*, 2017; Scaini e*t al.*, 2019).** Alterações nas concentrações de lactato também são significativamente mais altas em pacientes com TB do que os controles, o que indica o aumento do metabolismo mitocondrial e a utilização anaeróbica da glicose, o que é consistente com o metabolismo mitocondrial alterado no TB. Assim, pesquisas têm contribuído para a compreensão destes mecanismos, explicando parcialmente a toxicidade relacionada com episódios de humor cumulativos no TB, sendo que a nossa pesquisa, buscou principalmente explicar alguns destes mecanismos a partir do EO e metabolismo energético no TB e sua relação com as alterações bioquímicas subjacentes às mitocôndrias **[*ver revisões dos artigos 1 e 2*]**.

Essa exposição excessiva a estes mediadores inflamatórios, acaba levantando a hipótese de que pacientes bipolares podem apresentar alterações em seu desempenho neurocognitivo, com impacto em sua funcionalidade diária e em aspectos psicossociais **(McEwen e Gianaros, 2011;**

Grande *et al*., 2012; Fagiolini, *et al*., 2013; Passos *et al*., 2016; Post, 2020; Serafini *et al*., 2021). Vale ressaltar que essas alterações são mais pronunciadas em pacientes crônicos com múltiplos episódios, mas que já podem estar presentes nos estágios mais iniciais da doença **(Berk *et al*., 2011).**

1.4. Funções cognitivas e funcionalidade.

Nos últimos anos, houve um avanço essencial nas medidas clínicas que analisam a deterioração das funções superiores e o comprometimento funcional. No entanto, essas medidas são elaboradas, especializadas, exaustivas e caras. Assim, testes mais diretos como FAB (Frontal Assessment Battery) (Bateria de Avaliação Frontal), e FAST (Functioning Assessment Short Test) (Teste Rápido de Avaliação Funcional), ajudam a medir o desempenho cognitivo e funcional, e podem servir como uma tela para avaliação posterior. Nesta pesquisa, procuramos estabelecer o grau de comprometimento da funcionalidade de pacientes bipolares tipos I / II em fase eutímica através do teste FAST e as funções cognitivas em especial as funções executivas (FE), pelo teste FAB. Os pacientes bipolares foram divididos em dois grupos com diferentes tempos do início da doença (≤ 3 anos e ≥ 10 anos), comparando-os a um grupo controle saudável.

O comprometimento das funções cognitivas está presente em várias condições neurológicas, como distúrbios neurodegenerativos, lesões cerebrais traumáticas, derrames, e mais recentemente, em vários transtornos psiquiátricos, como distúrbios por uso de substâncias **(Cunha *et al*., 2010; Fontes *et al*., 2011)** e esquizofrenia **(Orellana e Slachevsky, 2013).** Esses comprometimentos cognitivos podem ser mensurados através de diferentes testes neuropsicológicos, caracterizados por reduções principalmente nas FE. O termo FE é utilizado para descrever processos cognitivos que permitem a uma pessoa desenvolver um comportamento direcionado a um objetivo flexível e independente **(Blair *et al*., 2005; Goldstein *et al*., 2014).**

As FE apresentam principalmente três domínios principais: memória de trabalho, inibição e flexibilidade cognitiva. Esses domínios são considerados a base para outras FE mais complexas como; planejamento, resolução de problemas, raciocínio abstrato, entre outros **(Miyake *et al*., 2000; Thompson *et al*., 2005; Bora *et al*., 2008; Diamond, 2013).** Embora o significado dos déficits das funções cognitivas ainda não seja totalmente compreendido, muitos estudos demonstram que pacientes com TB, mesmo na fase eutímica, apresentam disfunções cognitivas, em diversos domínios, como memória verbal, controle da impulsividade, e da atenção, entre outros. Considerando a natureza multifacetada das funções cognitivas, em especial das FE, diversos instrumentos têm sido utilizados para avaliá-las, os quais apresentaram boas propriedades psicométricas, com boa consistência interna e confiabilidade inter observadores. Testes como Frontier Executive Screen (FES), Executive Interview-25 (EXIT-25) e Ineco Frontal Screening (IFS), mostraram correlação e acurácia semelhantes na detecção de deficiências executivas em várias patologias. Contudo, mais recentemente vem sendo utilizado o teste FAB, sendo um teste breve (10 min) para avaliar principalmente FE, composto por seis domínios, que serão explicadas mais à frente **(Bourne *et al*., 2013).** Embora o teste FAB tenha sido inicialmente validado em pacientes com doenças neurodegenerativas e posteriormente estendido a outras patologias, como distúrbios extrapiramidais, danos vasculares como acidente vascular cerebral, demência como a doença de Alzheimer e demência fronto temporal **(Dubois *et al*., 2000; Paviour *et al*., 2005; Wong *et al*., 2007; Lima *et al*., 2008; Boban *et al*., 2012),** mais recentemente, diversos autores começaram a pesquisar o uso do teste FAB para diferentes patologias psiquiátricas, demonstrando uma boa resposta **(Reichenberg *et al*., 2009; Fiorentino *et al*., 2013; Baez *et al*., 2014; Caixeta *et al*., 2017).** Por essa razão, vem aumentando o interesse do uso do teste FAB para os pacientes com TB, sendo este um dos objetos do nosso estudo

(Barbosa *et al*., 2012; Bauer *et al*., 2014; Buoli *et al*., 2014; Gowda *et al*., 2017; Barbosa *et al*., 2018).

Desta forma, as disfunções neurocognitivas observadas nos diferentes estados de humor no TB e mesmo durante o estado eutímico, podem ser um dos fatores determinantes para a incapacidade funcional presente nos pacientes com TB, sendo estas alterações na funcionalidade desses pacientes, similares àquelas que ocorrem em pacientes com outras patologias mentais **(Savitz *et al*., 2005; Robinson e Nicol Ferrier, 2006; Tabarés-Seisdedos *et al*., 2008; Bonnín *et al*., 2010; Gitlin *et al*., 2011; Bonnín *et al*., 2012; Lewandowski *et al*., 2013).** Com relação à funcionalidade, diversas ferramentas para avaliar a funcionalidade dos pacientes bipolares vem sendo utilizadas nos últimos anos, sendo o teste FAST conforme já descrito acima, uma delas. Este teste já foi validado em diferentes populações de pacientes e em diferentes idades com TB apresentando resultados consistentes **(Cunha e Novaes, 2004; Rosa *et al*., 2007; Cacilhas *et al*., 2009; Barbato *et al*., 2013; Suominen *et al*., 2015; Zhang *et al*., 2018; Ilhan e Sentürk, 2015; Orhan *et al*., 2020).** Foram observadas dificuldades funcionais significativas em diferentes domínios como, por exemplo; ocupacional, social e autonomia, em um grande número de pacientes bipolares, mesmo após a remissão sintomática com o estabelecimento da eutimia **(Rosa *et al*., 2010; Martínez-Arán *et al*., 2002; Martínez-Arán *et al*., 2007; Martino *et al*., 2009).** Assim, o estado eutímico no TB não é sinônimo de recuperação da funcionalidade do paciente **(Mur *et al*., 2009).** Isso já foi muito bem descrito por **Gitlin *et al*. (1995),** que demonstraram que, apesar do tratamento farmacológico e psicoterápico, 73% dos pacientes tiveram recidiva com depressão e mania muitas vezes em um período de cinco anos. Mesmo para aqueles que não recaíram, foram observadas alterações em seu funcionamento psicossocial, principalmente nas áreas ocupacional e interpessoal, gerando um mau prognóstico para a doença (**Keck *et al*., 1998).** Esta perda da funcionalidade dos pacientes bipolares e de outras patologias psiquiátricas já vem

sendo estudada há mais de duas décadas. Contudo, a hipótese relacionada a esse fenômeno mais recentemente observada seriam os déficits cognitivos decorrentes da cronicidade do curso clínico e os sintomas subsindrômicos persistentes que se mantem presentes **(Martínez-Arán *et al*., 2007; Mur *et al*., 2009).** Além disso, pesquisas realizadas com pacientes logo após o primeiro episódio maníaco, mostraram deficiências funcionais já presentes em até 70% desses **(Tohen *et al*., 2003).** Desta forma, o comprometimento funcional, nos mais diferentes aspectos, não foi significativamente diferente em pacientes durante seu primeiro episódio, do que naqueles com episódios múltiplos. Devemos salientar que, mesmo em um estudo observacional, prospectivo, incluindo 3.681 pacientes com episódios de mania aguda ou mista por dois anos (2004 a 2006), **Goetz *et al*. (2007),** descobriram que o comprometimento funcional e ocupacional já estava presente no ano anterior ao primeiro episódio de mania. Esse baixo desempenho funcional parece ser a norma em pacientes com TB. No entanto, faltam mais estudos para estabelecer quais variáveis clínicas estão associadas ao comprometimento cognitivo e quais são os impactos desses comprometimentos no TB **(Rosa *et al*., 2009; Cacilhas *et al*., 2009; Lee *et al*., 2015a).** Assim, ainda são poucos os estudos que comparam o perfil do desempenho neurocognitivo e funcional de pacientes com TB, principalmente em fase eutímica, e mais ainda de estudos que diferenciem e correlacionem o grau de alterações bioquímicas com os aspectos cognitivo-funcional entre os pacientes que mais recentemente desenvolveram o transtorno (fase precoce da doença) com aqueles com mais tempo de doença (fase mais tardia da doença).

Indivíduos com TB nos diferentes estágios evolutivos da doença (precoce e tardia) e nas diferentes fases (depressiva, maníaca e eutímica), parecem apresentar alterações tanto de alguns destes biomarcadores (citados acima) no sangue periférico **(Gawryluk *et al*., 2011; Salim *et al*., 2011; Frederico *et al*., 2012; Chung *et al*., 2013; De Sousa *et al*., 2014c; De Sousa *et al*., 2015a; Tunçel *et al*., 2015; Siwek *et al*., 2016; Vasconcelos-Moreno *et al*., 2017; Valvassori**

***et al*., 2018),** como nos resultados dos testes de avaliação neurocognitiva **(Martínez-Arán *et al*., 2004.ª; Martínez-Arán *et al*., 2004b; Savitz *et al*., 2005; Osuji e Cullum, 2005; Goswami *et al*., 2006; Bearden, 2011; Lee *et al*., 2015a; Stamelou *et al*., 2015)** e da funcionalidade. **(Rosa *et al*., 2010; Bonnín *et al*., 2010; Bearden *et al*., 2011; Santos *et al*., 2014; Vasconcelos-Moreno *et al*., 2016; Solé *et al*., 2018; Léda-Rêgo *et al*., 2020; Lomastro *et al*., 2021).** Todas estas alterações observadas serão discutidas mais à frente.

Assim, a neuroprogressão a partir da remodelação da estrutura cerebral, associado a essas alterações químicas, têm importantes implicações clínicas, visto que estágios iniciais e tardios da doença parecem apresentar diferentes características biológicas e assim, possivelmente, requererem diferentes estratégias de tratamento **(Ferensztajn e Rybakowski, 2012).**

1.5 Justificativa

A psiquiatria apresentou avanços científicos nas últimas 3 décadas, contudo, ainda é necessário esclarecer vários aspectos das bases biológicas do TB. Para isso devemos buscar desenvolver novas estratégias mais eficazes e personalizadas que possam contribuir para melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Desvendar os mecanismos fisiopatológicos do TB segue sendo um desafio, visto que esta doença é altamente complexa, de caráter multifatorial sendo determinada pela interação entre fatores genéticos, ambientais e envolvimento sistêmico, comprometendo não só o SNC, mas também outros sistemas fisiológicos periféricos.

Assim, os pacientes apresentam várias alterações em biomarcadores periféricos (aumento de marcadores pró-inflamatórios, EO, diminuição de fatores tróficos), o que tem demostrado associação do TB a uma toxicidade sistêmica significativa (neuroinflamação) **(Kapczinski *et al*., 2010).** Desta forma, essa toxicidade pode estar relacionada a alterações nestes sistemas fisiológicos periféricos e influenciar também em mudanças no SNC, contribuindo para uma diminuição na resiliência celular, produzindo alterações cognitivas e da funcionalidade e levando a uma maior vulnerabilidade dos pacientes ao estresse e piora clínica no seu prognóstico com o passar dos anos (neuroprogressão). Neste contexto, a melhor compreensão dos mecanismos responsáveis por tais alterações bioquímicas, cognitivas e funcionais poderá auxiliar no desenvolvimento de novas terapias medicamentosas que sejam mais eficazes no tratamento do TB.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é comparar diferentes grupos de biomarcadores (neurotrofinas, mediadores inflamatórios, estresse oxidativo e metabolismo energético) medidos a partir de amostras de sangue periférico, em pacientes com TB, tipo I / II eutímicos, diagnosticados a partir do seu primeiro episódio maníaco com (≤ 3 anos e ≥ 10 anos de doença), e correlacioná-los com as funções cognitivas e de funcionalidade, através dos testes FAB e FAST, respectivamente e comparar estes resultados com pacientes controles saudáveis.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar se há comprometimento nas funções cognitivas e na funcionalidade utilizando os testes FAB e FAST respectivamente, nos pacientes com TB I / II em eutimia, diagnosticados com ≤ 3 anos de doença, e ≥ 10 anos de doença a partir do seu primeiro episódio maníaco.

Avaliar se há diferenças entre os grupos bipolares eutímicos (≤ 3 e ≥ 10 anos de doença) quanto as características demográficas, clínicas e farmacológicas.

Avaliar quais os domínios apresentam alterações na cognição em maior prevalência após a aplicação do teste FAB, em pacientes bipolares eutímicos com (≤ 3 e ≥ 10 anos de doença).

Avaliar quais os domínios apresentam alterações na funcionalidade com maior prevalência após a aplicação do teste FAST, em pacientes bipolares eutímicos com (≤ 3 e ≥ 10 anos de doença).

Correlacionar se há diferença nas pontuações dos testes FAB e FAST entre os grupos bipolares eutímicos (≤ 3 e ≥ 10 anos de doença) quanto a idade dos pacientes, e o tempo de estudo.

Avaliar em qual das categorias através das pontuações (sem comprometimento, leve, moderada e grave) prevalecem os pacientes bipolares eutímicos com (≤ 3 e ≥ 10 anos de doença), após a realização dos testes FAST e FAB.

Correlacionar os testes FAB e FAST entre os pacientes com ≤ 3 anos de doença e correlacionar os testes FAB e FAST entre os pacientes com ≥ 10 anos de doença.

Avaliar e comparar os níveis das neurotrofinas BDNF e GDNF no soro de pacientes com TB, tipo I / II em eutimia, com ≤ 3 e ≥ 10 anos de doença, comparando com pacientes controle saudáveis.

Avaliar e comparar a atividade das enzimas antioxidantes (SOD, GSH-Px, CAT) nos eritrócitos, e a peroxidação lipídica através dos níveis de TBA-RS no plasma, de pacientes bipolares tipos I / II em eutimia, com ≤ 3 anos e ≥10 anos de doença, comparando com pacientes controle saudáveis.

Avaliar e comparar os níveis das citocinas (IL-6, IL-10 e TNF-α), no soro de pacientes bipolares tipo I / II em eutimia, com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos de doença, comparando com pacientes controle saudáveis.

Avaliar e comparar a atividade da citrato sintase, e da succinato desidrogenase em leucócitos de pacientes bipolares tipos I / II em eutimia, com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos de doença, comparando com pacientes controle saudáveis.

Avaliar e comparar a atividade dos Complexos I e II em leucócitos de pacientes bipolares tipos I / II em eutimia, com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos de doença, comparando com pacientes controle saudáveis.

Revisar e discutir a influência dos biomarcadores periféricos no processo da neuroinflamação.

Avaliar possível correlação entre os biomarcadores medidos nos grupos de pacientes com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos de doença, com as alterações observadas nos testes FAST (funcionalidade) e FAB (funções cognitivas).

PARTE II

Materiais e Métodos
Análise Estatística e
Artigos científicos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Aspectos Éticos

A entrevista diagnóstica, os testes FAB e FAST e coleta de amostra de sangue periférico foram realizadas após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE**) (ver anexos).** Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE (protocolo número 655.037) **(ver anexos**) e seguiu as normas éticas da Declaração de Helsinque de 1975. Não houve conflito de interesses entre os pesquisadores envolvidos e os achados da pesquisa.

3.2. Participantes e Triagem

Esta pesquisa iniciou em agosto de 2018, onde foram avaliados neste estudo 50 pacientes com TB tipos I/II, em fase eutímica e 25 pacientes controles. Alguns pacientes foram recrutados no serviço ambulatorial do Hospital Psiquiátrico Porto Seguro, localizado na cidade de Curitiba, Brasil, e outros eram participantes de um grupo de psicoeducação para pacientes bipolares na cidade de Joinville (GATTAB) (Grupo de Atendimento do Transtorno Afetivo Bipolar), ligados a uma OSCIP. Os pacientes bipolares foram divididos em dois grupos distintos, cada um com 25 indivíduos. Vinte e cinco pacientes estavam na fase inicial da doença (≤ 3 anos desde o diagnóstico do TB a partir do primeiro episódio maníaco); 25 pacientes na fase tardia da doença (≥ 10 anos desde o diagnóstico de TB a partir do primeiro episódio maníaco) e um grupo de 25 pacientes controles saudáveis. Os grupos foram pareados por idade, gênero, profissão, estado civil e nível educacional. O tratamento desses pacientes incluía farmacoterapia (todos os pacientes bipolares neste estudo usavam psicofármacos), além da maioria deles (74%),

participarem do programa de psicoeducação, implantado nos últimos três anos. Durante os atendimentos de psicoeducação, os pacientes são treinados em estratégias a serem aplicadas em sua rotina diária, bem como no enfrentamento de situações estressantes que se apresentam como desencadeadoras de novas crises. Alguns pacientes também se utilizavam de intervenções psicoterapêuticas individuais **(APA, 2002; Miklowitz e Scott, 2009; Fountoulakis *et al*., 2012).** Cada paciente foi submetido a uma avaliação clínica e psiquiátrica, que coletou dados demográficos, antropométricos, farmacológicos e variáveis clínicas (idade de início, duração da doença, número de episódios, número de internações, tempo desde a última recaída e internação, histórico de tentativas de suicídio, histórico de sintomas psicóticos, história de ciclagem rápida e história psiquiátrica familiar).

O diagnóstico psiquiátrico de pacientes com TB para os tipos I / II foi definido através do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) e confirmado por Entrevista Clínica Estruturada para os Transtornos do DSM-5: (CID-5-CV) Versão Clínica. Os sintomas maníacos e depressivos foram avaliados usando a Young Mania Rating Scale (YMRS), **Young *et al.* (1978),** e a versão de 17 itens da Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D 17), **Hamilton, (1960),** respectivamente. Com a escala HAM-D 17, foram avaliados os sintomas depressivos ocorridos na última semana e, no YMRS, os sintomas maníacos que se apresentaram nas últimas 48h. As pontuações de corte utilizadas no estudo foram: YMRS > 7 como indicativo de mania e HAM-D 17 > 7 como indicativo de depressão. Essa seleção foi feita para minimizar o viés da sintomatologia sobre o funcionamento psicossocial, o que foi amplamente comprovado na literatura.

As avaliações clínica, psiquiátrica, e a coleta dos dados sociodemográficos assim como a aplicação das escalas, foram realizadas no ambulatório do Hospital Psiquiátrico Porto Seguro em Curitiba e em consultórios particulares em Joinville. As coletas de sangue foram realizadas

no Laboratório que é conveniado ao Hospital Porto Seguro em Curitiba e no Laboratório Werner de Análises Clínicas em Joinville. O armazenamento das amostras de sangue coletadas e posterior análise serão relatados à frente.

3.3. Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão de pacientes bipolares em estágio eutímico foram: (a) os pacientes deveriam estar em fase eutímica há pelo menos seis meses (b) idade ativa (18 – 60 anos); (c) nenhum dos pacientes deveria ter história de dependência ou abuso de substâncias no último ano; (d) não apresentar histórico de doenças neurodegenerativas, câncer, obesidade mórbida ou trauma; (e) não apresentar comorbidades médicas significativas (hipertensão arterial ou diabetes) e não estar recebendo medicamentos além dos prescritos para sua condição psiquiátrica; estes deveriam ter sido usados por pelo menos quatro semanas; (f) não ser fumante; (g) não estar grávida ou amamentando; (h) conseguir compreender os procedimentos e o protocolo; (i) fornecer consentimento informado por escrito e não apresentar deficiência cognitiva como demência ou deficiência visual ou auditiva.

Os controles saudáveis foram selecionados entre a equipe do hospital e dos laboratórios, e os mesmos pareados por parâmetros demográficos de idade, sexo, educação e estado civil. Os critérios de inclusão de pacientes controles saudáveis foram: (a) idade ativa (18 a 60 anos); (b) nenhum diagnóstico de TB confirmado por entrevista clínica semiestruturada (SCID-5-CV); (c) nenhum histórico familiar de doença mental grave, como esquizofrenia,

transtorno psicótico, transtorno depressivo maior e TB em parentes de primeiro grau; (d) nenhum dos pacientes deveria ter história de dependência ou abuso de substâncias no último ano; (e) não apresentar comorbidades clínicas significativas e não ter recebido medicamentos por pelo menos quatro semanas; (f) sem histórico de doenças neurodegenerativas, câncer, obesidade mórbida ou

trauma; (g) não ser fumante; (h) não estar grávida ou amamentando; (i) conseguir compreender os procedimentos e o protocolo; (j) fornecer consentimento informado por escrito e não apresentar deficiência cognitiva como demência ou deficiência visual ou auditiva.

3.4. Dados Demográficos, Clínicos e Farmacológicos

Diversos dados foram obtidos de forma sistemática e incluídos no estudo. As variáveis demográficas foram: idade, sexo, estado civil, nível de escolaridade, anos de escolaridade e situação laboral. As variáveis clínicas foram idade de início, duração da doença (anos), hospitalização e duração das hospitalizações, tentativas de suicídio, antecedentes familiares de doenças mentais, e participação em um grupo de psicoeducação.

3.5. Testes Psicométricos

Diferentes testes psicométricos foram utilizados. Como já descrito acima, para avaliar os sintomas maníacos, foi utilizada a Escala de Avaliação da Mania de Young; (Young Mania Rating Scale - YMRS) e para avaliar os sintomas depressivos, utilizamos a versão de 17 itens da Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton, (Hamilton Depression Rating Scale - HAM-D 17). Para obter informações sobre o comprometimento funcional dos pacientes bipolares, utilizamos o Teste Curto de Avaliação da Funcionalidade (Functionality Assessment Short Test - FAST), e para avaliar as funções cognitivas do lobo frontal, foi utilizada a Bateria de Avaliação Frontal (FAB)[3].

[3] *Para melhor compreensão e aprofundamento sobre os Testes FAST e FAB, ler o* ***item 2.5. e seus sub-itens (páginas 404 e 405)*** *publicado no* ***artigo 3*** - Cyrino, L. A. R., Delwing-de Lima, D., Calegari, C. R, Tomasi, M.C. & Stammerjohann, F. L.S. (2021**)** *Assessment of different domain impairments in Cognitive Functions and Functionalities found in Euthymic Patients with Bipolar Disorder I / II - during the early and late phases of the disease, using the FAB and FAST tests.*

3.6. Ensaios Bioquímicos

Os ensaios bioquímicos foram realizados seguindo as seguintes fases e protocolos como descrito a seguir, 1- Coleta de sangue periférico e separação do plasma, do soro e isolamento das células 2- Protocolo para dosagem sérica de BDNF, GDNF, IL-6, IL-10 e TNF-α. 3- Protocolo para determinação da atividade enzimática da GSH-Px, SOD e CAT nos eritrócitos. 4- Protocolo para determinação dos níveis de TBA-RS no plasma. 5- Protocolo para determinação da atividade das enzimas do ciclo do Ácido Tricarboxílico em leucócitos. 6- Protocolo para determinação das enzimas da CTE em leucócitos.

3.6.1. Coleta de sangue periférico e separação do plasma, do soro e isolamento das células

As amostras de sangue foram obtidas pela manhã entre 8 e 10h, com os pacientes em jejum de 10 horas no laboratório conveniado do Hospital Porto Seguro em Curitiba e pelo Laboratório Werner de Análises Clínicas em Joinville. Foram coletados 40 mL de sangue periférico de cada indivíduo por punção venosa em vários tubos a vácuo com anticoagulante. Todos os ensaios bioquímicos foram executados em duplicatas por uma pessoa que desconhecia a origem das amostras.

Soro, plasma e eritrócitos foram preparados de acordo com **Delwing-de Lima *et al*., (2017)** a partir de amostras de sangue total. Os leucócitos foram separados por gradiente de ficoll (Sigma) de acordo com **Noble e Cutts, (1967).** Após o soro, o plasma, os eritrócitos e os leucócitos separados, estes foram progressivamente congelados a -10° C por 30 minutos, a -20° C por 30 minutos e congelados a -80° C até a execução do ensaio.

3.6.2. Protocolo para dosagem sérica de BDNF, GDNF, IL-6, IL-10 e TNF-α

Os níveis séricos de BDNF, GNDF, interleucina IL-6, IL-10 e TNF-α, foram avaliados através

da metodologia sanduíche-ELISA, usando um ‘kit’ comercial RAB0026, RAB0205, RAB1089, RAB0306 e RAB0244, respectivamente; (Sigma-Aldrich, EUA). Esses ensaios empregaram um anticorpo de captura específico revestido em uma placa de 96 poços. Padrões e amostras foram pipetados para os poços e a proteína alvo apresentada na amostra foi fixada nos poços por anticorpos imobilizados. Os poços foram lavados e uma detecção de anticorpo biotinilado específico foi adicionada à proteína alvo. Após a lavagem do anticorpo biotinilado não ligado, a estreptavidina conjugada com HRP foi pipetada para os poços. Os poços foram lavados novamente, com uma solução de substrato TMB que foi adicionada aos poços e a cor foi gerada em proporção à quantidade de BDNF, GDNF, IL-6, IL-10 e TNF-α ligado. A solução de parada mudou a cor de azul para amarelo, e a intensidade da cor determinada (absorbância ajustada para 450 nm). A atividade específica é relatada como ng / ml de proteína.

3.6.3. Protocolo para determinação da atividade enzimática da GSH-Px, SOD e CAT nos eritrócitos.

Para análise das enzimas antioxidantes (GSH-Px, SOD, CAT), foram retirados 10 mL de sangue periférico de cada indivíduo por punção venosa em tubo a vácuo com heparina. Amostras de sangue foram centrifugadas a 1.000 x g por 10 min. Os eritrócitos foram separados do plasma e em seguida foram lavados 3 vezes com solução salina fria (4 — 8° C) (0,153 mol / L de cloreto de sódio). Posteriormente, os eritrócitos foram lisados pela adição de 1 mL de água destilada a 100 µL dos eritrócitos lavados e, em seguida, congelados a -80° C até a determinação da atividade das enzimas antioxidantes. Posteriormente, foram congelados e descongelados 3 vezes e centrifugados a 13.500 × g por 10 min. Para determinar a atividade das enzimas antioxidantes, o sobrenadante foi diluído para conter cerca de 0,5 mg / mL de proteína. Para medir a atividade de cada enzima foi utilizada as seguintes técnicas; 1- técnica de **Wendel, (1981)** para dosagem do

GSH-Px, sendo ao final utilizado espectrofotometria com absorbância ajustada para 340 nm, e a atividade específica é relatada em unidades de GSH-Px / mg de proteína; 2 — técnica de **Marklund, (1985)** para determinação da SOD, sendo ao final utilizado espectrofotometria com absorbância ajustada para 420 nm, e a atividade específica é relatada em unidades de SOD / mg de proteína; 3 — técnica de **Aebi, (1984),** para determinação da CAT, sendo ao final utilizado espectrofotometria com absorbância ajustada para 240 nm, e a atividade específica é relatada como unidades de CAT / mg de proteína.

3.6.4. Protocolo para determinação dos níveis de TBA-RS no plasma

Para análise dos níveis TBA-RS foram retirados 10 mL de sangue periférico de cada indivíduo por punção venosa em tubo a vácuo com heparina. Amostras de sangue foram centrifugadas a 1.000 x g por 10 min, o plasma foi então removido por aspiração e congelado a -80° C até análise de TBA-RS. Para medir os níveis de TBA-RS foi utilizada a técnica de **Ohkawa *et al*. (1979)**, sendo ao final utilizado espectrofotometria com absorbância ajustada para 535 nm, e a atividade específica é relatado como nmol de MDA /mg de proteína.

3.6.5. Protocolo para determinação da atividade das enzimas do ciclo do Ácido Tricarboxílico em leucócitos.

Para análise das enzimas do metabolismo energético citrato sintase e succinato desidrogenase, 10 mL de sangue periférico foram retirados de cada indivíduo por punção venosa em tubo a vácuo com heparina. O sangue foi centrifugado a 1000 x g durante 30 minutos e os leucócitos foram separados usando Ficoll gradiente (Sigma) **(Noble, 1967).** Os leucócitos foram então transferidos para outro tubo, onde foram lavados duas vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS) e centrifugados a 1300 x g por 10 minutos. Após centrifugação, foram adicionados

PBS e dimetilsulfóxido (DMSO) < 0,01% às amostras, que foram progressivamente congeladas a -10 °C por 30 minutos, a -20 °C por 30 minutos e congeladas a -80 °C até o ensaio.

Para medir a atividade de cada enzima foi utilizada as seguintes técnicas: 1- técnica de **Alp *et al*. (1976),** para determinação da citrato sintase, sendo ao final utilizado espectrofotometria com absorbância ajustada para 412 nm, e a atividade específica é relatada em unidades nmol de citrato por minuto por miligrama de proteína. 2 – técnica de **Fischer *et al*. (1985),** para determinação do succinato desidrogenase, sendo ao final utilizado espectrofotometria com absorbância ajustada para 600 nm, e a atividade específica é relatada por unidades nmol de succinato por min por miligrama de proteína. Para dosagem proteína, foi utilizado a técnica de **Lowry *et al*. (1951)**.

3.6.6. Protocolo para determinação das enzimas da Cadeia de Transporte de Elétrons em leucócitos.

Para análise das enzimas do metabolismo energético na CTE, Complexo I e Complexo II, foram retirados 20 mL de sangue periférico de cada indivíduo por punção venosa em tubo a vácuo com heparina. O sangue foi centrifugado a 1000 x g durante 30 minutos e os leucócitos foram separados usando Ficoll gradiente (Sigma) **(Noble, 1967).** Os leucócitos foram então transferidos para outro tubo, onde foram lavados duas vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS) e centrifugados a 1300 x g por 10 minutos. Após centrifugação, foram adicionados PBS e dimetilsulfóxido (DMSO) < 0,01% às amostras, que foram progressivamente congeladas a -10 °C por 30 minutos, a -20 °C por 30 minutos e congeladas a -80° C até o ensaio. A atividade do Complexo I foi medida pela determinação da taxa de redução de ferrocianeto dependente de NADH, monitorada em um espectrofotômetro a 420 nm, seguindo o método descrito por **Cassina e Radi, (1996)** e a atividade específica é relatada por unidades nmol do Complexo I por min por miligrama de proteína. A atividade do Complexo II foi medida seguindo a diminuição da

absorbância devido à redução de 2,6-DCIP, monitorada em espectrofotômetro em 600 nm, segundo o método descrito por **Fischer *et al*. (1985)** e a atividade específica é relatada por unidades nmol do Complexo II por min por miligrama de proteína

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

4.1. Análise estatística para o tamanho da amostra e tamanho de efeito

A amostra incluiu 25 pessoas do grupo controle e 50 pacientes com TB divididos em dois grupos de pacientes eutímicos (≤ 3 e ≥ 10 anos de doença). Inicialmente, foi calculado o tamanho da amostra — diferença entre duas médias independentes (duas caudas). As análises mostraram um tamanho de efeito d = 0,853; α = 0,05; potência (1-β err prob) = 0,80; parâmetro de não centralidade δ = 2,89; t crítico = 2,01; Df = 44; tamanho da amostra grupo 1 = 23; tamanho da amostra do grupo 2 = 23; tamanho total da amostra = 46; potência real = 0,808. Para calcular as análises de poder estatístico utilizou-se o programa — G * Power 3.1.

4.2. Análise estatística dos testes FAB e FAST

As variáveis demográficas e clínicas foram analisadas através de estatística descritiva, incluindo (média) e (desvio padrão) para variáveis quantitativas e frequência absoluta (n), e parentes (%), para variáveis qualitativas com intervalo de confiança de 95% em ambos os casos. Para os dados qualitativos nominais e ordinais, foi utilizado o teste Qui-quadrado ($\chi 2$) de Pearson e para dois ou mais grupos foi utilizado o teste exato de Fisher. Testes paramétricos e não paramétricos foram utilizados para a análise das variáveis qualitativas. A suposição de normalidade e homocedasticidade de cada variável foi analisada com o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e teste de Levene, respectivamente. Para comparações de variáveis paramétricas entre

dois grupos, foi utilizado o teste *t* de Student, e para mais de dois grupos, o teste de análise de variância (ANOVA) de Tukey. Para comparar variáveis não paramétricas entre duas e três amostras independentes, foram utilizados os testes de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis, respectivamente. O teste post hoc de Dunn foi realizado para comparações entre pares, caso os efeitos principais fossem significativos. Para análises de associação, a correlação de Pearson foi usada para testar as variáveis quantitativas e a correlação de Spearman para as variáveis não quantitativas. Além disso, estratificamos nossa amostra em cinco grupos conforme o nível de graduação: analfabeto, até o ensino fundamental, até o ensino médio, graduação e pós-graduação. A pontuação total de cada teste; FAST e FAB, foram correlacionados com a idade e nível educacional. Foi utilizada a versão mais recente do programa de 'software' SPSS (SPSS Inc., Chicago, EUA). Para o cálculo das análises de poder estatístico foi utilizado o programa — G * Power 3.1. A significância estatística foi fixada em $p < 0,05$ para todos os testes ou adotou-se um nível de significância de 5% para rejeitar as hipóteses nulas.

4.3. Análise estatística dos testes bioquímicos

Os dados obtidos foram tabulados e gráficos construídos utilizando o programa Microsoft Ecxel® e o programa estatístico PAST 4.03® **Hammer *et al*. (2001).** A suposição de normalidade e homocedasticidade de cada variável foi analisada com o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e teste de Levene, respectivamente. Para comparações de variáveis paramétricas entre dois grupos, foi utilizado o teste *t* de Student, e para mais de dois grupos, o teste de análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste de Tukey. Para comparar variáveis não paramétricas entre duas e três amostras independentes, foram utilizados os testes de Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis, respectivamente. O teste post hoc de Dunn foi realizado para comparações entre pares, caso os efeitos principais fossem significativos. Os resultados foram

apresentados como média ± desvio padrão (SD). A significância estatística foi fixada em $p < 0,05$ para todos os testes ou adotou-se um nível de significância de 5% para rejeitar as hipóteses nulas.

5. ARTIGOS CIENTÍFICOS

5.1. ARTIGO 1

Concepts of Neuroinflammation and Their Relationship with Impaired Mitochondrial Functions in Bipolar Disorder

Luiz Arthur Rangel Cyrino, Daniela Delwing-de Lima*, Oliver Matheus Ullmann;

Thayná Patachini Maia

Artigo publicado na revista *Frontiers in Behavioral Neuroscience* em Fev. 2021.

(Qualis Interdisciplinar A1)

frontiers in Behavioral Neuroscience

REVIEW
published: 26 February 2021
doi: 10.3389/fnbeh.2021.609487

Concepts of Neuroinflammation and Their Relationship With Impaired Mitochondrial Functions in Bipolar Disorder

Luiz Arthur Rangel Cyrino[1,2,3]*, *Daniela Delwing-de Lima*[1,3,4], *Oliver Matheus Ullmann*[3] and *Thayná Patachini Maia*[4]

[1]Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Laboratório de Práticas Farmacêuticas of Department of Pharmacy, University of Joinville Region—UNIVILLE, Joinville, Brazil, [2]Department of Psychology, University of Joinville—UNIVILLE, Joinville, Brazil, [3]Department of Pharmacy, University of Joinville—UNIVILLE, Joinville, Brazil, [4]Department of Medicine, University of Joinville—UNIVILLE, Joinville, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:
Chun Yang,
Nanjing Medical University, China

Reviewed by:
Shusaku Uchida,
Kyoto University, Japan
Hideo Hagihara,
Fujita Health University, Japan
Suresh Sundram,
Monash University, Australia

***Correspondence:**
Luiz Arthur Rangel Cyrino
3657luizrangel@gmail.com

Specialty section:
This article was submitted to Pathological Conditions, a section of the journal Frontiers in Behavioral Neuroscience

Received: 23 September 2020
Accepted: 18 January 2021
Published: 26 February 2021

Citation:
Cyrino LAR, Delwing-de Lima D, Ullmann OM and Maia TP (2021) Concepts of Neuroinflammation and Their Relationship With Impaired Mitochondrial Functions in Bipolar Disorder.
Front. Behav. Neurosci. 15:609487.
doi: 10.3389/fnbeh.2021.609487

Bipolar disorder (BD) is a chronic psychiatric disease, characterized by frequent behavioral episodes of depression and mania, and neurologically by dysregulated neurotransmission, neuroplasticity, growth factor signaling, and metabolism, as well as oxidative stress, and neuronal apoptosis, contributing to chronic neuroinflammation. These abnormalities result from complex interactions between multiple susceptibility genes and environmental factors such as stress. The neurocellular abnormalities of BD can result in gross morphological changes, such as reduced prefrontal and hippocampal volume, and circuit reorganization resulting in cognitive and emotional deficits. The term "neuroprogression" is used to denote the progressive changes from early to late stages, as BD severity and loss of treatment response correlate with the number of past episodes. In addition to circuit and cellular abnormalities, BD is associated with dysfunctional mitochondria, leading to severe metabolic disruption in high energy-demanding neurons and glia. Indeed, mitochondrial dysfunction involving electron transport chain (ETC) disruption is considered the primary cause of chronic oxidative stress in BD. The ensuing damage to membrane lipids, proteins, and DNA further perpetuates oxidative stress and neuroinflammation, creating a perpetuating pathogenic cycle. A deeper understanding of BD pathophysiology and identification of associated biomarkers of neuroinflammation are needed to facilitate early diagnosis and treatment of this debilitating disorder.

Keywords: energy metabolism, mitochondria, bipolar disorder, oxidative stress, neuroinflammation, neuroprogression

INTRODUCTION

Bipolar disorder (BD) is a chronic and recurrent mood disorder characterized by cyclic episodes of depression and mania. Further, some patients may experience psychotic episodes during which there is a high risk of suicide. Depressive and manic episodes are often interspersed with periods of mood stability or euthymia (Goodwin and Jamison, 2007; Hoertel et al., 2013; Sigitova et al., 2017). Global prevalence has been estimated at approximately 1%–2%, but some estimates suggest that it may be as high as 4% (Kessler et al., 2005; Martinowich et al., 2009). BD can be divided into two subtypes, BD I characterized by severe manic and depressive episodes, and the less severe BD II characterized by hypomania and depression. A meta-analysis reported a centrally pooled lifetime prevalence of 1.1% for BD I and 1.2% for BD II (Clemente et al., 2015). Rates vary considerably across studies, however, possibly due to methodological differences. A recent epidemiological meta-analysis of 85 studies, including 67,373 adult patients from 44 countries, found a lifetime BD spectrum prevalence of 1.02%, relatively stable over three decades (Moreira et al., 2017).

The BD concordance rate is significantly higher between monozygotic twins than dizygotic twins, indicating a genetic influence (Barnett and Smoller, 2009). Studies have shown that BD shares pathogenic characteristics with a wide variety of other diseases, including metabolic, cardiovascular, and neurodegenerative diseases (Furman et al., 2019).

These and many other findings reviewed here, suggest that disease etiology is best explained by multiple interactions between environmental factors such as chronic stress and susceptibility genes (Goodwin and Jamison, 2007), altering the brain development, neuroplasticity, chronobiology, neurotransmission, and cell signaling pathways, ultimately leading to neuroinflammation, oxidative stress, and apoptotic cell death (Schloesser et al., 2008; Berk et al., 2011; Szepesi et al., 2018).

Progressive structural and biochemical changes in the prodromal and early stages of the disease, produce a slowly evolving clinical process called neuroprogression. The typical patient exhibits a slow decline in behavioral and cognitive functions associated with a weaker response to treatment (Berk et al., 2011; Borges et al., 2019). This slow progression prevents early diagnosis and rapid initiation of appropriate treatment. Finding an effective treatment regimen usually takes several years, resulting in substantial clinical impairment.

The main objective of this review article is to provide a better understanding of the pathophysiology of BD, especially the contributions of biomarkers such as neurotrophins, cytokines, oxidative stress, metabolic deficiencies, which are directly related to neuroinflammation (Fernandes et al., 2015).

We also seek to understand both the role of neuronal and glial cells, as well as the mitochondrial functions involved in neuroinflammation. These cells have high energy demands in relation to many other cell types, and the mitochondrial dysfunction produces the rupture of the electron transport chain (ETC), which leads to metabolic deficits, oxidative stress, cellular damage, and inflammation. Also, we summarized recent research conducted through biomarkers that were present in blood samples, which assisted in early diagnosis, and treatment response for better BD outcomes. Future research strategies based on these findings, processes, and their impacts on the evolution of the disorder, are discussed in detail below.

CHRONIC STRESS, NEUROINFLAMMATION, AND NEUROPROGRESSION, AS PATHOGENIC MECHANISMS UNDERLYING BIPOLAR DISORDER

A clear relationship has been established between chronic stress and neuropsychiatric pathology, including depression and BD, mediated primarily by dysregulation of the hormonal stress responses (Byrne et al., 2016; McEwen, 2017; Hei et al., 2019). Low levels of glucocorticoid released during acute mild stress can induce a compensatory increase in metabolism and enhance cognitive functions (Miller et al., 2009; Yaribeygi et al., 2017). For instance, glucocorticoid binding to high-affinity receptors can improve working memory and promote long-term memory consolidation by promoting dendritic growth and dendritic spine formation in the hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex (Barsegyan et al., 2010; Liston et al., 2013). Under chronic stress, however, glucocorticoid levels decrease as a result of continuous or repetitive long-term stimulation (Hall et al., 2015). This is associated with reductions in glucocorticoid receptor expression and cortisol sensitivity, resulting in hypothalamic-pituitary-adrenal axis adaptation or habituation, particularly during emotional stress which has multiple long-term deleterious effects on neuronal functions, in different areas i.e., hippocampus, anterior cingulate cortex, prefrontal cortex, ventral striatum and insular cortex (Ulrich-Lai and Herman, 2009; Berk et al., 2013; Vieta et al., 2013; Jayasinghe et al., 2015; Rabasa et al., 2015).

Thus, when the challenges imposed by the social and physical environment appear unexpectedly and continuously exceed their limits of intensity and duration. Systems are activated which regulate homeostasis in higher levels of demands, which lead to the concept of allostasis. Thereby, allostasis is the ability to achieve stability by enacting compensatory responses to physiological and environmental stressors. The physiological repetition of allostatic cycles appears to accelerate the disease process (McEwen, 2000; Ganzel et al., 2010), including psychiatric disorders through a mechanism known as allostatic load (Rios, 2014). The allostatic load hypothesis was developed to explain the substantial clinical changes observed in the pathologies, and how these cumulative changes are reflected by the progression of the disease, leaving the cells and organs inefficient (i.e., pathogenic; McEwen, 2000; Grande et al., 2012). This concept has been transferred to brain diseases and has been referred to as neuroprogression (Berk et al., 2009, 2011; Salagre et al., 2018). Particularly in BD patients, the repeated episodes of depression and mania over decades, enhance the vulnerability to stress, further reducing the patients' recovery capacity and accelerating disease process, impairing several functions like the reduction of neural plasticity,

consequently reducing the memory capacity, irregular emotional responses, mood control, and decision making (Jansen et al., 2013; Vasconcelos-Moreno et al., 2017; Lacroix, 2019). This process can be better understood through the effects in the brain cells and their mitochondria, which have pro-inflammatory peripheral cytokine receptors, such as interleukins (IL)-6, IL-10, and tumor necrosis factor α (TNF-α), which respond by releasing second messengers, stimulating the production of more cytokines by the CNS. The initial stimulation may derive from damaged tissues releasing cytokines into the bloodstream, or by inflammatory stimulation of peripheral afferent neurons (Irwin and Cole, 2011; Fregnan et al., 2012; Zuccoli et al., 2017). Upon arrival in the brain, these proteins activate other cells and biochemical reactions, which enhance the allostatic load and can be modulated by multiple mechanisms like leukocytosis, a reduction in lymphocytes and natural killer cells, increased CD4+/CD8+ ratios, more proinflammatory cytokines (IL-1, IL-6, and TNF-α), cytokine receptor expression, and activation of the downstream nuclear factor kappa B (NF-κB) stress response pathway (Byrne et al., 2016; Gulati et al., 2016). At the cellular level, several of these effects are associated with altered calcium signaling. In chronic levels of cortisol, the expression of L-type calcium channels is upregulated by glucocorticoids promoting a greater Ca^{2+} influx into the cells promoting protease and phospholipase activation (Joëls et al., 2012, 2013; Merkulov et al., 2017). Also, when an overloaded calcium entry occurs, it leads to the opening of the mitochondrial permeability transition pore, and outer mitochondrial membrane permeabilization, respectively, facilitating the release of cytochrome c through the mitochondrial outer membrane, which triggers the caspase-3-dependent apoptosis cascade (Pereira et al., 2012; Perier et al., 2012; Di Meo et al., 2016). Furthermore, this increased calcium entry reduces ETC-coupled proton export, resulting in a reduced adenosine triphosphate (ATP) synthesis (Lin et al., 2012; Zhao et al., 2019). Furthermore, the extrinsic apoptosis pathway is triggered by the ligation of TNF-family death receptors at the cell surface. Receptor ligation can result in the recruitment of the Fas-associated death domain protein, which in turn binds procaspase-8 molecules, allowing autoproteolytic processing and activation of caspase-8, the principal effector of the extrinsic apoptosis pathway (Youle and Strasser, 2008; Machado-Vieira et al., 2009; Mitochondrial dysfunctions can also trigger excessive production of free radicals, leading to oxidative stress that eventually reduces metabolism and induces neuroplastic dysfunction, contributing to apoptosis by altering the structure of lipids, proteins, and DNA molecules (Machado-Vieira et al., 2007; Vakifahmetoglu-Norberg et al., 2017).

All of these elements are involved in the chronic stress response, which demonstrates their close relationship with the immune system, where all of them causes a decrease in the capacity for neuronal repair, and mitochondrial transport to synaptic regions *via* the cytoskeleton with further neuronal dysfunction and death (Mizisin and Weerasuriya, 2011; Lacroix, 2019). There is compelling evidence that BD arises through alterations in the synapses and critical circuit functions, rather than an imbalance of specific neurotransmitters mediating affective and cognitive functions (Martinowich et al., 2009; Scaini et al., 2020). Furthermore, prolonged metabolic dysregulation, deficient neurotrophin (NT) signaling, oxidative stress, and neuroinflammation, which may contribute to the increased frequency and severity of manic and depressive episodes, as well as other sequelae with age (Heneka et al., 2010; Kim et al., 2020). These neurological and behavioral abnormalities, in turn, will interfere with the patient's personal and professional life, leading to further stress-related pathogenesis. BD patients also exhibit an increase in psychiatric and medical comorbidities, which also may be associated with an imbalance of these mediators (Kapczinski and Streb, 2014; Rowland et al., 2018).

Increased levels of proinflammatory cytokines in the CNS stimulate the activation of immune cells, including macrophages, monocytes, and microglia. Rising inflammatory cytokines in the CNS appear to depend on the activation of microglia (McEwen, 2017).

The role of microglia and the participation of proinflammatory mediators in neuroinflammation will be discussed from this point forward. The CNS hosts a heterogeneous population of resident myeloid-derived immune cells that regulate communication between the nervous, vascular, and immune systems. Most prominent among these are the parenchymal microglia, which account for up to 16% of the total cell number in some areas of the human brain (Norden and Godbout, 2013). Microglia perform essential homeostatic functions under non-pathological conditions, including regulation of neural circuit development (Squarzoni et al., 2014) through the release of neurotrophins such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF; Parkhurst et al., 2013), clearance of apoptotic cells and cellular debris, and synaptic pruning (Paolicelli et al., 2011). Microglia are also critical regulators of neuroinflammation in response to brain trauma and various pathogenic insults (Gomez-Nicola et al., 2014). Until recently, only circulating monocytes were thought to replenish tissue macrophage populations, including CNS microglia. However, new research suggests the presence of two ontogenetically and genetically distinct myeloid populations of microglia and nonparenchymal macrophages in the meninges, perivascular spaces, and choroid plexus (Jakubzick et al., 2013; Davies and Taylor, 2015; Herz et al., 2017). In rodents, microglial progenitors derived from the yolk sack appear on an embryonic day (E) 8.5 (Ginhoux et al., 2010; Gomez Perdiguero et al., 2015) distributed in the brain before birth, and remain a stable population throughout life. In contrast, other CNS macrophages likely originate from monocytes derived from the bone marrow (Ajami et al., 2011; Kierdorf et al., 2013), are short-lived after birth and show rapid turnover through proliferation and apoptosis (Aguzzi et al., 2013; Prinz and Priller, 2014), which renews the entire population several times over a lifetime (Askew et al., 2017). Rodent cell transplantation experiments (Hickey et al., 1992) and observations following bone marrow transplantation (Yang et al., 2013; Barr et al., 2015) also indicate that some monocytes in the blood and perivascular macrophages can infiltrate into the CNS parenchyma (Mildner et al., 2007; Kierdorf et al., 2015). Despite their distinct origins, CNS microglia and macrophages are morphologically similar

and share certain functions. However, microglia cannot be replaced by monocyte-derived macrophages due to their specific gene expression patterns and unique functions (Goldmann et al., 2013; Ginhoux et al., 2016; Prinz and Priller, 2017). In addition to microglial cells, nonparenchymal and endothelial cells regulate neural-immune function by maintaining the BBB, promoting angiogenesis, regulating the composition of the cerebrospinal fluid, and controlling vascular tone (He et al., 2016). Various dendritic cells, mast cells, monocytes, and granulocytes complete the CNS immune system (Kierdorf et al., 2015; Goldmann et al., 2016). Mast cells are one of the few cells that migrate to the CNS under both physiological and pathological conditions, where they reside in the neuronal parenchyma (Sayed et al., 2010) and function as pathogen sensors and modulate inflammation by recruiting other immune cells to specific target regions (Skaper et al., 2013). Many of these cells acquire anti-inflammatory or pro-inflammatory phenotypes (Brendecke and Prinz, 2015), and it is the balance between these phenotypes that determines overall neuroinflammatory status and the progression of neuroinflammatory diseases (Goldmann et al., 2016). Even in their inactivated resting state, microglia continually search for signs of potential threats to the CNS (Hellwig et al., 2013). Multiple pathways are activated by chemical signals from infection, trauma, endogenous and exogenous toxins, and the loss of constitutive anti-inflammatory signals. Studies have shown that microglia and brain macrophages can differentiate into two distinct phenotypic groups, the classically activated (M1) and alternatively activated (M2) populations (Chawla, 2010; Geissmann et al., 2010). These reactive phenotypes have distinct protein and non-coding mRNA expression profiles, release unique cytokines and chemokines, and have different phagocytic activities. The reactive behavior of M1 microglia can eliminate the initial activation trigger (such as a pathogen) with or without the support of other resident or invasive immune cells. This loss of the pathogenic stimulus leads to a more repair-oriented microglial profile and eventual reversion to the initial resting state (Arcuri et al., 2017; Tohidpour et al., 2017). Thus, the microglia produce an immune response during inflammatory conditions, moderating potential damage to the CNS and aiding in tissue repair and remodeling (Kingwell, 2012; Hellwig et al., 2013). Furthermore, in the early stages of diseases, symptoms may be followed by microglial polarization to M1 (Duffy et al., 2010; Yutaka and Kenji, 2014; Ginhoux and Guilliams, 2016). This M1 phenotype can produce proinflammatory cytokines and oxidative metabolites that cause additional damage, such as TNF-α and IL-6 and IL-1 (Colton, 2009; Miller and Raison, 2016). Activation of the M2 phenotype by IL-4, IL-13, or IL-10 (Nguyen et al., 2011; Nakagawa and Chiba, 2014) negatively regulates M1 function, thereby suppressing inflammation and promoting tissue repair and wound healing, consequently attenuating symptoms and restoring tissue homeostasis (Kawabori and Yenari, 2014). In certain chronic conditions, however, some cells may not return to a complete resting state, whereas others remain post-activated microglia. If M2 microglia polarization is insufficient, M1 microglial functions are maintained and induce sustained inflammation and progressive neural network dysfunction. In turn, symptom severity may gradually increase according to the frequency of M1 polarization (Yutaka and Kenji, 2014; Bachiller et al., 2018). These cells may maintain subtle changes, such as transcriptional activity, that modulate their sensitivity to anti-inflammatory signals or alter responses to subsequent stimulation. Sustained M1 activity may even lead to neuronal degeneration (Arcuri et al., 2017). A recent study reported that there was an M1 dominance in one of three BD patients during the manic state, and a downregulation of M2 markers during the manic state in all three patients, suggesting that the M1/M2 balance may indeed contribute to BD symptoms. The researchers showed that the gene profiling patterns are different between manic and depressive states (Ohgidani et al., 2017).

However, while activated microglia have demonstrated neurotoxic effects, responses may be very different *in vivo* compared to the commonly used *in vitro* models (Hellwig et al., 2013) due to the absence of inhibitory factors such as CD200, CX3CL1, CD22, and CD172, which maintain microglia attenuation *in vivo* (Ransohoff and Cardona, 2010; Prinz et al., 2011). Blocking even one of these inhibitory factors results in profound changes in microglial reactions, often causing a disproportionate immune response and occasionally cytotoxic responses (Hoek et al., 2000; Cardona et al., 2006). With all that, neurons may be damaged or functionally impaired when microglial activation is dysregulated, and microglia-mediated inflammation is intense, as observed in chronic brain pathologies. This inflammatory neuronal damage can contribute to the progression of neurological disease, and possibly psychiatric diseases such as BD (Perry et al., 2010; Kettenmann et al., 2011; von Bernhardi et al., 2015).

ENERGY DEFICITS IN NEURONAL MITOCHONDRIA AND ITS POSSIBLE RELATIONSHIP TO PSYCHIATRIC DISORDERS

Neurons contain large numbers of mitochondria to supply the energy required for the maintenance of ion gradients and electrical signaling, neurite growth, long-distance axonal transport (mitochondria to distal synapses), calcium homeostasis, and calcium signaling. Neurons are highly energy-demanding cells. A single cortical neuron at rest consumes approximately 4.7 million ATP molecules per second to execute various biological functions, including the maintenance of ionic gradients critical for electrophysiological signaling. In the human brain, the ATP utilization rate is three times higher in gray matter than white matter (Zhu et al., 2012, 2018), and gray matter neurons are responsible for approximately 20%–25% of all systemic oxygen and glucose consumption (Attwell and Laughlin, 2001). Proper mitochondrial functions are, therefore, critical for neural purposes.

Although the entire neuron requires energy, some sites display higher energy demand, including presynaptic and postsynaptic terminals that mediate neurotransmission, active growth cones or axonal branches, which regulate short- and long-term plasticity, and also Ranvier's nodes, where the

transmembrane ion flux is the highest (Zhang et al., 2010; Sheng and Cai, 2012). This is only possible because mitochondria are highly dynamic, and the relevance of these dynamic processes to BD and other psychiatric disorders is related to the constant changes in the mitochondrial number. It produces an altered mitochondrial distribution and a defective transport. The rapid movement of axonal mitochondria is a primary mechanism, underlying spontaneous and neural activity-dependent synaptic remodeling, being altered under certain conditions, such as stress and axonal trauma (Cataldo et al., 2010; Sheng and Cai, 2012; Sun et al., 2013; Chu, 2019). Sustained local mitochondrial energy production in the presynaptic region is critical for synaptic vesicle release. For instance, a drop in ATP levels in hippocampal synaptosomes reduces synaptic vesicle release and alters the cytosolic calcium concentration (Ivannikov et al., 2013). The postsynaptic site also has extensive energy requirements. A combined proteomics and mass spectroscopy study by Föcking et al. (2016) found high cytoskeletal and signaling protein densities in the postsynaptic region, facilitating the movement of receptors and activating complexes critical for standard synaptic transmission and plasticity. Aberrant synaptic plasticity is implicated in neuropsychiatric disorders such as schizophrenia and BD and may stem from mitochondrial dysfunction and reduced metabolism (Akula et al., 2015; Forero et al., 2016). As shown in **Table 1**, the mitochondrial protein synthesis combined involves a total of 37 nuclear DNA (nDNA), and mitochondrial DNA (mtDNA) genes. Many of these proteins are involved in both oxidative phosphorylation (OXPHOS) and ETC, and any change in genes can drastically interfere with metabolism (Björkholm et al., 2015; Garcia et al., 2017; Kang et al., 2018). Thus, multiple lines of evidence implicate mitochondrial dysfunctions in BD, including the ~20-fold higher incidences of BD symptoms in patients with mitochondrial diseases. The research reported the identification of mitochondrial DNA deletions, polymorphisms in some BD cases, aberrant up- or downregulation of various mitochondrial genes, BD-like behavioral phenotypes in mouse models with mitochondrial gene mutations. Furthermore, there were differences in mitochondrial morphology, distribution, and metabolite levels between BD patients and controls (Kato, 2017).

Mitochondria produce ATP from metabolites through two continuous biochemical processes, the tricarboxylic acid cycle (TCA) and OXPHOS (Vidyasagar, 2015). ATP generation within the mitochondrial matrix requires interconnected processes (Cooper and Hausman, 2006; Kühlbrandt, 2015). First, fatty acids and the glycolytic degradation product pyruvate are converted into acetyl-CoA *via* matrix enzymes (Cronan and Laporte, 2005) and enter the TCA cycle (**Figure 1**), which generates electron-rich NADH and $FADH_2$ as sources for ETC complexes I and II, respectively (Enríquez, 2016). The electrons are transferred to Coenzyme Q10, which is essential due to its antioxidative properties (Bentinger et al., 2010). Coenzyme Q10 transfers the electrons to Complex III, where they are transported to Complex IV by cytochrome c (Alvarez-Paggi et al., 2017). In Complex IV, electrons are transferred to molecular oxygen to form water (Enríquez, 2016; Milenkovic et al., 2017). Finally, hydrogen is pumped through Complex V to store energy for ATP formation from ADP and inorganic phosphate, which is coupled to controlled re-entry of protons in the mitochondrial matrix (**Figure 2**; Walker, 2013; Angrimani et al., 2015).

TABLE 1 | Structural codifications of Oxidative Phosphorylation System (OXPHOS) complexes from nDNA and mtDNA.

Structural codification of OXPHOS complexes					
Complex	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**
nDNA encoded polypeptides	≃ 38	4	10	10	16
mtDNA encoded polypeptides	7	0	1	3	2

The interest of neuropsychiatry in the TCA cycle and oxidative stress focused on the studies related to the production of brain energy. The TCA cycle plays an important role since it is responsible for the reactions that generate the substrates for OXPHOS that occur in ETC. The expression of levels or activities of several TCA enzymes are altered in the brains of BD patients, which may contribute to both neuronal energy deficits and oxidative stress (Blass and Brown, 2000; Zuccoli et al., 2017). Research with bipolar patients and animal models observed a reduction in TCA cycle enzymes (Lee et al., 2007; Valvassori et al., 2013). In oxidative stress, it is essential to note that mitochondria are the primary source of free radicals, and are generated mainly through the ETC, during the energy production from glucose and oxygen, it generates oxidative stress (Barbosa et al., 2010; Mandavilli et al., 2018). Initially, we will describe the main processes, functions, and losses in oxidative stress, and later, the changes that occur in BD, which are related to the section on biomarkers.

Free radicals are molecules that have at least one unpaired valence electron, resulting in chemical instability and high reactivity with other molecules being continuously produced under physiological conditions (**Figure 3**). However, the free radicals, both the reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS), are derived from both endogenous sources (mitochondria, peroxisomes, et cetera), and exogenous sources (alcohol, heavy metals, et cetera; Phaniendra et al., 2015).

The physiologically and pathologically relevant free radicals include; superoxide ($O_2 \bullet -$), hydroxyl ($OH\bullet$), nitric oxide ($NO\bullet$), peroxyl-lipids ($LOO-$), and hydrogen peroxide (H_2O_2), and they are formed *via* enzymatic and non-enzymatic reactions (Reynolds et al., 2007; Collin, 2019). Superoxide is the leading free radical species formed by the ETC, and thus, production is enhanced in metabolically active neurons. The $OH\bullet$ is the most reactive biological species and can damage for instance ETC complexes I, II, and III. It can also lead to Fe-S electron center complex malfunction in the TCA cycle and affect mtDNA, leading to further oxidative stress resulting in a reduction in mitochondrial energy production (Federico et al., 2012; Ghezzi and Zeviani, 2012; Voets et al., 2012; Kausar et al., 2018). In contrast, hydrogen peroxide is not strongly reactive but can be toxic due to its long half-life, damaging the membrane permeability (Barreiros et al., 2006).

In healthy cells and tissues, multiple enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems can reduce the damage caused by free radical production. However, most ROS are neutralized by endogenous enzymatic antioxidants which consist of diverse proteins that metabolize free radicals,

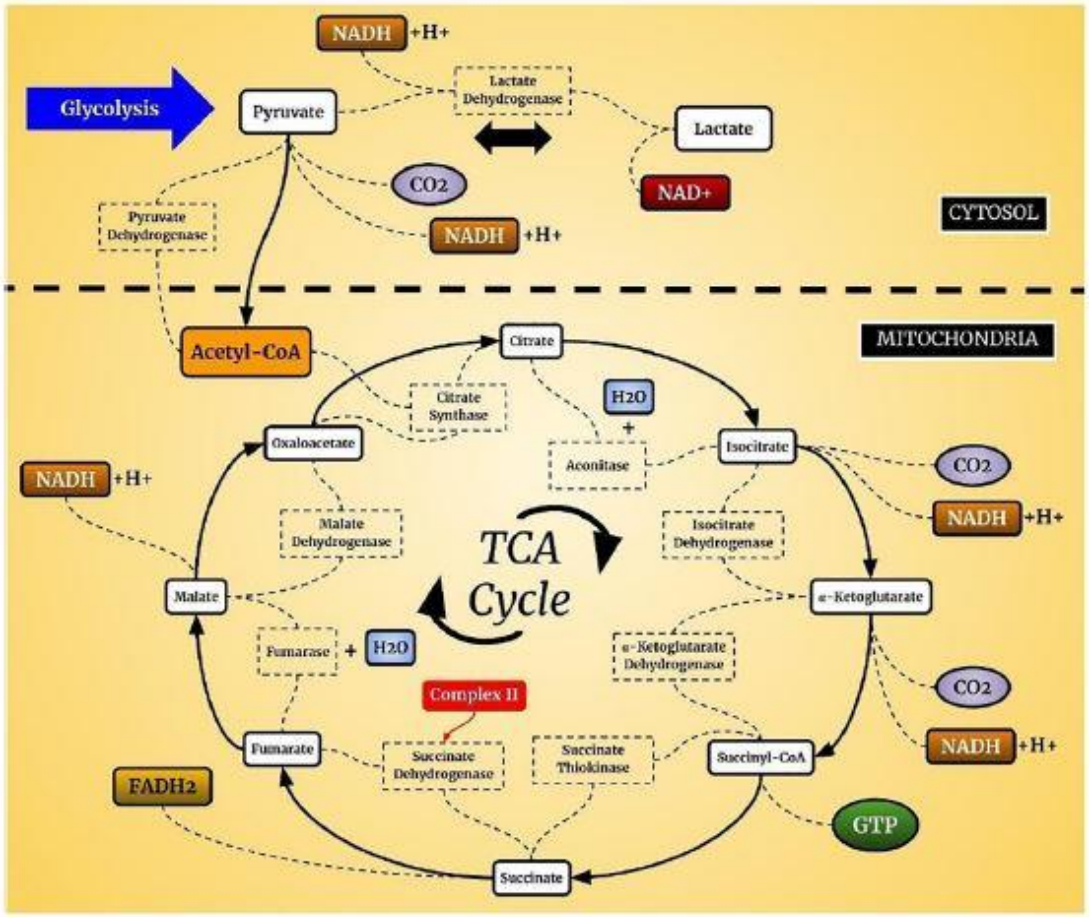


FIGURE 1 | Tricarboxylic acid cycle (TCA) cycle. In aerobic organisms, glucose is oxidized to CO_2 and H_2O. The pyruvate present in the cell cytosol is oxidized to acetyl-CoA which can enter the TCA cycle. This cycle is composed of a complex of enzymes located in the mitochondrial cytosol of eukaryotic cells.

reduce oxidized molecules, and peroxidized lipids, being the best known, the superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), GSH S-transferase, γ-glutamylcysteine synthetase, GSH peroxidase (GSH-Px), and GSH reductase (Jeeva et al., 2015; Kurutas, 2016). When free radical production is greater than the endogenous antioxidant capacity, it leads to oxidative stress (Barreiros et al., 2006; Barbosa et al., 2010). Among the most pathogenic results of oxidative stress in neurons, is self-perpetuating membrane lipid peroxidation, which results in reduced membrane fluidity and barrier function (Ademowo et al., 2017). SOD acts as the primary protective enzyme against oxidative stress and DNA damage in mitochondria by catalyzing the dismutation of $O_2 \bullet -$ into H_2O_2 and O_2 (Gill and Tuteja, 2010; Krishnamurthy and Wadhwani, 2012). In turn, H_2O_2 is converted to H_2O and O_2 in most tissues by CAT (Barbosa et al., 2010). At low concentrations, H_2O_2 regulates several physiological processes, however, at higher concentrations, it damages cells by reacting with cellular iron to form hydroxyl radicals. Therefore, CAT is critical for limiting H_2O_2-induced damage (Ighodaro and Akinloye, 2018). GSH-Px inhibits lipid peroxidation, thereby preventing loss of membrane function. Like CAT, it acts by catalyzing the reduction of H_2O_2 or RHO_2 to H_2O by GSH, which is concomitantly oxidized to form the disulfide-bonded dimer GSSG (Espinosa-Diez et al., 2015).

It is important to highlight that the brain is particularly vulnerable to oxidative damage because it uses a high oxygen utilization rate, associated with weak defense of antioxidants, and a constitution rich in lipids, favoring the oxidative damage in neuronal cells (Salim, 2017). Thus, alterations in antioxidants and various oxidation products suggest a possible link between oxidative stress and BD. Evidence demonstrates that ROS act as essential second messengers in innate and adaptive immunity (West et al., 2011; Kamiński et al., 2013), stimulating proinflammatory cytokine generation (including IL-1B, IL-8,

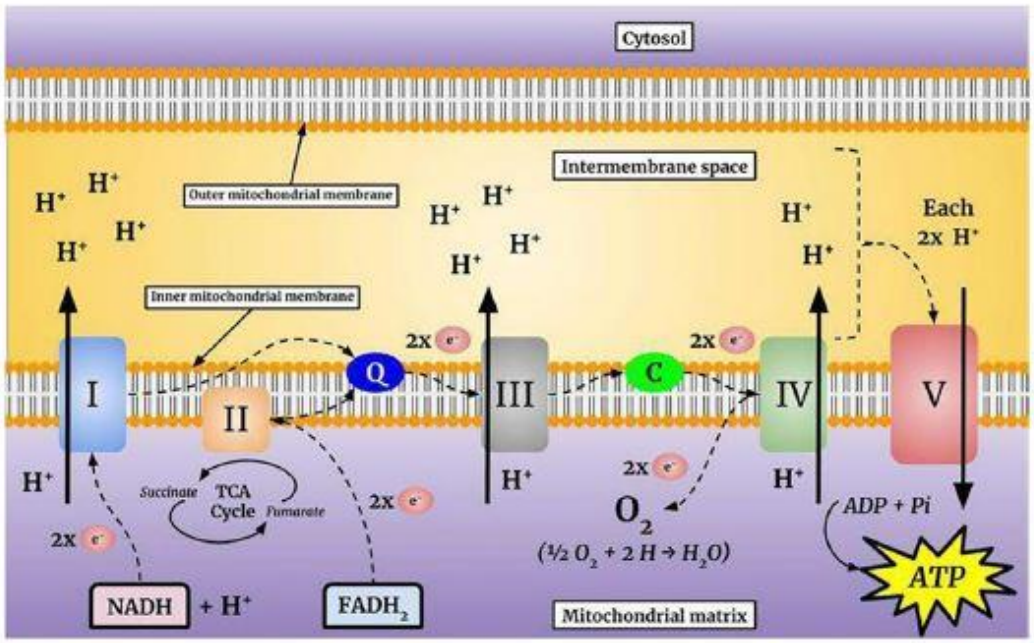


FIGURE 2 | The mitochondrial electron transport chain (ETC). The flow of electrons through the complexes is energetically coupled to the pumping of protons into the intermembrane space. This process produces an electrochemical gradient that stores the energy necessary for adenosine triphosphate (ATP) synthesis.

TNF-α, and interferons) during the immune response to control pathogens and repair tissue damage (Chen and Nuñez, 2010; Mittal et al., 2013). Therefore, in BD, a probable hypothesis is that a higher oxidative stress load is generated by a fundamental disturbance in mitochondrial functions, aggravating the disease. Based on these findings, improved mitochondrial functions is a potentially promising strategy for BD treatment.

BIOMARKERS RELATED TO NEUROINFLAMMATION IN BIPOLAR DISORDER

Collectively, the findings mentioned above indicate that BD should be treated as a multisystem inflammatory disease. An analysis of biomarkers for inflammation and oxidative stress showed that patients with acute BD onset have a significantly higher systemic toxicity than healthy controls, although not as severe as sepsis (Pfaffenseller et al., 2013). Although consequent allostatic overload associated with neuroinflammation in BD patients has been present, a causal link between systemic toxicity and biomarkers has not yet been established. As such, there is an increasing interest in identifying peripheral biomarkers that could function as indicators for systemic and cellular toxicity in BD (Kapczinski et al., 2011; Frank et al., 2014). Specific biomarkers or combinations may be associated with the degree of disease activity during active periods or remission. Notably, some systemic markers have already been implicated as mediators of BD allostasis, and in neuroinflammation (Juster et al., 2013). Thus, such studies have improved our understanding of the disease's activity and progression, providing clues to new novel therapeutic targets.

While there is still no reliable set of biomarkers for early diagnosis, many show promise for disease detection and treatment evaluation. These biomarkers fall into three categories: (1) imaging signs; (2) genetic loci; and (3) metabolic molecules. Category 3, includes various substances that are derived from neuronal and glial cells, such as the neurotrophins BDNF, glia-derived neurotrophic factor (GDNF), and neuronal growth factor. The pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-1, and TNF-α, TCA markers such as citrate synthase, succinate dehydrogenase, and malate dehydrogenase, and oxidative stress-related markers including SOD, CAT, GLUT-Px, 3-nitrotyrosine, and products of lipid peroxidation (Thiobarbituric Acid-Reactive Substance; de Sousa et al., 2015; Scaini et al., 2016). In this review article, we will focus mainly on the last group (metabolic molecules), associating the alterations found in BD and their relationship with neuroinflammation.

Neurotrophins

Neurotrophins are small secreted proteins that promote multiple neuronal responses through surface receptor binding and activation of several downstream kinase signaling pathways. More than 50 neuronal growth factors are expressed in the mammalian brain. The NT family members BDNF,

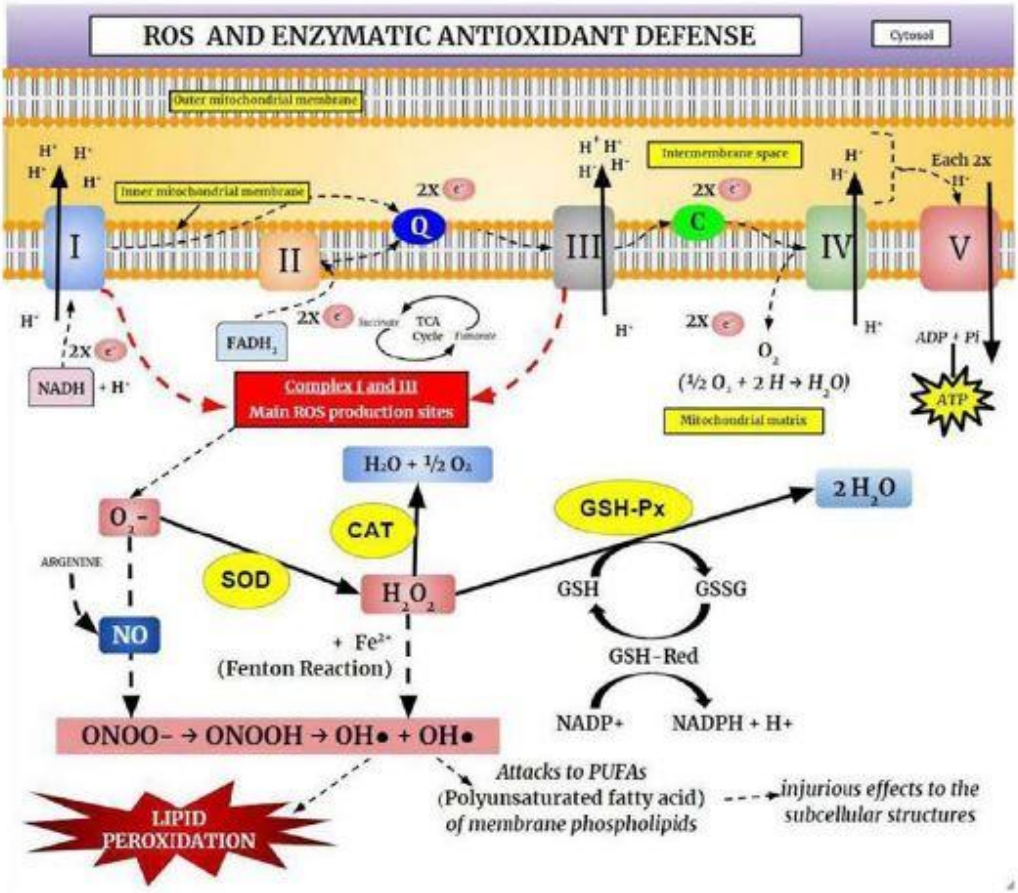


FIGURE 3 | The Oxidative Phosphorylation System (OXPHOS) and the enzymatic antioxidant defense. Electrons derived from cellular metabolism reach Complexes I or II through NADH or $FADH_2$, respectively. These electrons are then transferred to Coenzyme Q10 (ubiquinone), which carries electrons from Complexes I or II to Complex III. In Complex III, electrons are displaced from cytochrome b to cytochrome c and consequently transferred to Complex IV (cytochrome c oxidase), where they reduce O_2. These electrons are transported through mitochondrial protein complexes and are coupled to proton pumping into the intermembrane space. Complex V uses the generated electrochemical gradient for ATP synthesis. Complexes I and II are responsible for the production of superoxide anion (O_2-), which is removed by the antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD). This process produces hydrogen peroxide (H_2O_2), which is removed by catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) enzymes. Superoxide and H_2O_2 can be converted into highly reactive hydroxyl radicals (OH-), causing lipoperoxidation and cellular injury.

GDNF, NGF, NT-3, and NT-4/5 increase cell survival by stimulating axonal regeneration following injury and inhibiting apoptotic protein cascades, and promote multiple forms of neurite and synaptic plasticity (Machado-Vieira et al., 2009; Pereira et al., 2012). BDNF activates two distinct receptors, the NT p75 receptor, and the Trk tyrosine kinase receptor. These two receptors can have opposing actions depending on ligand availability and cellular context (Mocchetti and Brown, 2008; Sasi et al., 2017). Both receptors regulate development, survival, repair, cortical dendritic growth, and plasticity as observed, for example, in the visual cortex and its connections (Huberman and McAllister, 2002; Sutton and Schuman, 2006). The p75 receptor signals mainly through stress-associated pathways such as JNK, p53, and NF-κB, while Trk receptors activate the Akt and mitogen-activated protein kinase/extracellular regulated kinase (MAPK/ERK) pathways. Activation of the Trk receptor by BDNF phosphorylates target proteins such as phospholipase C, phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K), and ERK1/2 (Kaplan and Miller, 2000; Park and Poo, 2013). The MAPK/ERK pathway initiates a cascade that inhibits pro-apoptotic proteins and increases the expression and phosphorylation (activation) of the transcription factor nuclear cAMP response element (CREB), which upregulates the expression of neurotrophic/neuroprotective proteins such as Bcl-2 and BDNF (Machado-Vieira et al., 2009; Benito and Barco, 2010). Chronic cell stress can result in the dysregulation

of any component of the BDNF–MAPK/ERK–CREB pathway. For example, overstimulation by cortisol can negatively regulate CREB phosphorylation and subsequently decrease the transcription of NT genes such as BDNF (Kandel, 2001; Carlezon et al., 2005). This fact is especially vital in psychiatric illnesses and may contribute to the pathophysiology of BD (Berk et al., 2009; Tramontina et al., 2009).

Out of these, BDNF is the most widely distributed and is also the most studied in BD. The initial meta-analyses have reported reduced serum BDNF in BD patients during manic or depressive states, compared to euthymia. These discoveries have been found both in the serum of living BD patients, as well as in postmortem neurons (Knable et al., 2004; Sen et al., 2008; Fernandes et al., 2009; Lin, 2009). However, other meta-analyses and longitudinal studies have demonstrated that the reduced BDNF levels associated during BD manic and depressive phases were responsive at clinically useful drugs like lithium can elevate BDNF expression in the brain (Lang et al., 2007; Yang et al., 2009; Schmidt et al., 2011). More recently, Fernandes et al. (2015) performed a systematic review and meta-analysis evaluated serum and plasma BDNF levels in BD including a total of 52 studies with 6,481 participants, showing that, compared to healthy controls, peripheral BDNF levels are reduced to the same extent in manic and depressive episodes, while BDNF levels are not significantly altered in euthymia. The researchers showed the BDNF levels were negatively correlated with the severity of both manic and depressive symptoms. However, they found no evidence for a significant impact of illness duration on BDNF levels. Also, in plasma peripheral, BDNF levels increase after the successful treatment of an acute manic episode, but not of a depressive one demonstrating that BDNF is a potential biomarker of disease activity in BD, but not a biomarker of the stage (Panaccione et al., 2015; Roda et al., 2015). While it is not always clear whether reduced BDNF is a cause or consequence of BD-related pathology, there is a suggestive association between changes in brain BDNF levels and BD. The reduced serum BDNF in the brains of BD patients exhibits a variety of gross and fine morphological changes that become more pronounced with repeated episodes and disease duration (Tramontina et al., 2009; Olsen et al., 2013). For instance, reductions in the density of oligodendrocytes and myelination in BD patients showed brain white matter abnormalities have been observed in subgenual prefrontal cortex layer VI, caudate nucleus, and the hippocampus along with signs of necrosis and apoptosis (Mechawar and Savitz, 2016; Ganzola and Duchesne, 2017). Also, reduced neuronal somal size, increased somal density, and reduced dendritic spine density have been observed in the anterior cingulate cortex of BD patients. These changes may explain the associated impairments in cognition and judgment (Vostrikov et al., 2007; Konopaske et al., 2014).

As reported above, both cross-sectional and longitudinal studies have indicated that administration of antidepressants and mood stabilizers such as lithium and valproate has normalized BDNF, promoting so, a neuroprotection stress-induced, protecting the cells through anti-apoptotic pathways activation (Colucci-D'Amato et al., 2020). It can also increase the gray matter promoting neurogenesis in the subventricular zone of the lateral ventricle and subgranular zone of the hippocampal dentate gyrus, and improve cognitive functions such as learning and memory, both in animal and human studies (Sassi et al., 2002; Gould, 2007; Kempton et al., 2008; Machado-Vieira et al., 2009; Hashimoto, 2010; Corena-McLeod et al., 2013; Yu and Greenberg, 2016). However, the utility of BDNF as a biomarker during the early or late phases of the disease remains to be determined in longitudinal studies. Further studies are also needed to identify whether BDNF modulation can reduce acute episodes, and promote the possibility for patients to return to euthymia.

Other neurotrophins and neurotrophic factors are also altered in BD patients, reinforcing the hypothesis that impairments in neuroplasticity are involved in pathophysiology (Scola and Andreazza, 2015). Both NT-3 (Fernandes et al., 2010) and NT-4/5 (Walz et al., 2009) were increased during manic and depressive episodes compared to euthymic patients or healthy controls. However, studies on GDNF changes are conflicting. Barbosa et al. (2011b) found increased plasma GDNF levels in euthymic patients compared to manic patients and controls, while Rosa et al. (2006) observed increased GDNF levels in manic and depressive patients, but not in euthymic patients, compared to controls. In another study, GDNF serum levels were reduced in patients during manic and depressive episodes but increased after mood stabilizer treatment (Zhang et al., 2010). Additional studies are needed to assess whether peripheral GDNF levels correlate with CNS levels.

Inflammatory Cytokines

Both peripheral immune cells and resident brain cells, such as astrocytes, oligodendrocytes, and microglial cells, are associated with elevated pro-and anti-inflammatory cytokines (Barbosa et al., 2011a). The imbalance between them, have been implicated in neuroinflammation, causing toxicity and apoptosis of neurons and glial cells (Dong and Zhen, 2015; Réus et al., 2015; Muneer, 2016), which is associated with neuroprogression in BD, as well as other psychiatric diseases (Kato et al., 2013).

The prevailing hypothesis is that the immune system is chronically activated in BD mainly through microglial activation, which leads to an imbalance of pro-and anti-inflammatory cytokines and chemokines, which in turn can deregulate moods. This hypothesis arose after a significant number of patients with hepatitis C (treated using IFN-α), experienced depressive or manic symptoms (Hoyo-Becerra et al., 2014). It is not clear how peripheral cytokines affect inflammatory processes in the CNS since they do not readily cross the BBB under physiological conditions. Furthermore, postmortem studies have shown an increase or decrease in various pro- and anti-inflammatory factors in the prefrontal cortex, hippocampus, and cingulate gyrus of BD patients (Rao et al., 2010; Sneeboer et al., 2019). Also, many of the changes in cytokine levels found among bipolar patients, are similar to those observed in schizophrenia and major depression during acute and chronic disease phases (Hope et al., 2009; Momtazmanesh et al., 2019). Numerous studies have evaluated serum concentrations of cytokines (IL, IFN, TNF), growth transforming factors, and chemokines in BD patients. Research has pointed to an increase

in mainly proinflammatory factors i.e., IL-1β, IL-6, and TNF-α (Forrest et al., 2018; Formanova et al., 2019; Kany et al., 2019; Pawluk et al., 2020). On the other hand, several studies have shown that anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10, IL-13, IGF-1, TGF-β) increase BDNF release and inhibit microglial proinflammatory activity, resulting in increased synaptic pruning and microglial phagocytosis (Barbosa et al., 2011a; Lee et al., 2015; Sochocka et al., 2017; Liu et al., 2019; Milan-Mattos et al., 2019). Recently, some studies have evaluated circulating inflammatory mediators during different phases of BD as potential biomarkers for diagnosis or treatment, and the results were promising (Bhattacharya et al., 2016; Goldsmith et al., 2016; Sigitova et al., 2017; Rowland et al., 2018). Multiple studies have demonstrated an increase in IL-6, IL-1, IL-2, TNF-α, and TNFR1 serums, during the manic and depressive phases, compared to controls and euthymic patients (Brietzke et al., 2009a,b; Barbosa et al., 2011a; Modabbernia et al., 2013; Luo et al., 2016) while IL-4 concentration was significantly lower than in controls (Kim et al., 2007). Nonetheless, other studies have found elevated IL-6 in mania and euthymia, but not in bipolar depression (Uyanik et al., 2015; Jacoby et al., 2016). Kauer-Sant'Anna et al. (2009) found that IL-6 levels were elevated during the advanced stages of disease progression, while Hamdani et al. (2012) reported that the anti-inflammatory IL-10, increased in the early stages of the disease but decreased in the final stages. It is consistent with chronic progressive neuroinflammation, where BD patients with a more significant number of previous episodes, exhibit higher levels of TNF-α and IL-6 during all disease states (Kauer-Sant'Anna et al., 2009).

Other changes in these biomarkers have been observed during different phases following the treatment of acute illness. For instance, levels of the endogenous interleukin receptor antagonist (IL-1RA) were lower in the manic stage among chronic patients, while IL-6 was higher in the euthymic phase but not during the depressive phase compared to controls. Furthermore, IL-1β levels were also significantly elevated in chronic euthymic BD (Hamdani et al., 2013; Goldsmith et al., 2016). This IL-1 activates the transcription factor NF-κB, which in turn enhances the expression and release of IL-6, IL-8, and interferon-gamma (Magalhães et al., 2012; Kany et al., 2019) Thus, Rowland et al. (2018) concluded that while no single biomarker was able to differentiate mood phases or evaluate the stages of the disease, specific combinations including IL-6, BDNF, TNF-α, TNFR1, IL-2, IL-10, and IL-4, were correlated with the disease's stages. These findings demonstrate a significant link between the immune system and BD pathophysiological pathways.

TCA Cycle Enzymes and Metabolites

TCA cycle, a crucial component of respiratory metabolism, is composed of a set of eight enzymes present in the mitochondrial matrix. However, most of the TCA cycle enzymes are encoded in the nucleus in higher eukaryotes (Cavalcanti et al., 2014). Studies suggest that mitochondrial dysfunctions play an essential role in the pathophysiology of BD. Increased neuronal oxidative stress produces deleterious effects on signal transduction, plasticity, and cell resilience (Olmez and Ozyurt, 2012), which can induce mitochondrial dysfunctions reducing the ETC activity and of the TCA cycle. The impact of these dysfunctions can be measured in the peripheral blood and postmortem brains of BD patients (De Sousa et al., 2014a; Valvassori et al., 2018). This notion is consistent with parallel transcriptomics, proteomics, and metabolomics studies, showing differential expression of numerous genes related to mitochondrial functions and oxidative stress between patients with mental disorders and healthy controls (Prabakaran et al., 2004). For instance, a loss of function mutation in the malic dehydrogenase enzyme gene, which converts malic acid to pyruvate, was found in the postmortem brains of patients with longer mental disease duration (Lee et al., 2007).

Changes in the TCA cycle, modify brain metabolism, and produce free radicals, leading to further dysfunction. The final product of glycolysis, pyruvate, is converted to acetyl-CoA by pyruvate dehydrogenase. Pyruvate, the end-product of glycolysis, is derived from cellular cytoplasm being destined into mitochondria as fuel undergirding the TCA carbon flux, being critical for mitochondrial ATP generation and for driving several major biosynthetic pathways in TCA (Gray et al., 2014). Acetyl-CoA is then converted to CO_2 in the TCA cycle with the resulting production of NADH and $FADH_2$, the electron donors for the ETC, and ATP production. Eight enzymes control the TCA cycle and inactivating anyone can reduce mitochondrial energy generation (Blass and Brown, 2000; Shi and Tu, 2015; Lazzarino et al., 2019). Despite its importance, few studies have evaluated the activity of the TCA cycle enzymes in patients with mental diseases. Bubber et al. (2011) demonstrated that the activities of enzymes in the TCA cycle varied considerably in the human brain in schizophrenia. They determined, on the prefrontal cortex, the activities of the PDHC, aconitase, isocitrate dehydrogenase (ICDH), and KGDHC. The activity of aconitase was undetectable, and the KGDHC and ICDH activities were very low. On the other hand, fumarase and malate dehydrogenase had the highest activity, while pyruvate dehydrogenase complex (PDHC) and citrate synthase activities were intermediate. Reduced activity of some of these enzymes suggests that some patients with schizophrenia have abnormalities in neural mitochondria. Interestingly, Bubber et al. (2004) had demonstrated that the enzymatic activities of the TCA cycle in mouse brains have a similar pattern, although the majority of the enzyme activities in the brain were 2–3 times higher than in humans brains. However, a study involving 18 untreated BD patients in major depressive episodes found no changes in TCA cycle enzymes compared to controls. The research assayed the activity of the key TCA cycle enzymes citrate synthase, malate dehydrogenase, and succinate dehydrogenase from leukocytes of BD patients (de Sousa et al., 2015). In contrast, Yoshimi et al. (2016) showed that serum levels of pyruvate and α-ketoglutarate in BD patients were significantly higher than those of healthy controls, while serum levels of acetyl-CoA and oxaloacetate were not altered. It is possible that TCA cycle enzymatic alterations are present only during the manic phases. Further, no study has been conducted during later disease stages. Although the BD patients presented higher serum levels of α-ketoglutarate and pyruvate than controls, the reasons underlying are unknown.

Increased pyruvate levels likely play a role in the pathogenesis of BD. The α-ketoglutarate is a key metabolite in the TCA, but also an obligatory substrate for 2-oxoglutarate-dependent dioxygenases (2-OGDO) which are involved in DNA and histone methylation, producing an epigenetic impact (Salminen et al., 2014). Altered α-ketoglutarate levels in BD may lead to epigenetic changes. Epigenetic modifications have been suggested to play an important role in the pathogenesis of many psychiatric disorders including BD (Labrie et al., 2012; Kato and Iwamoto, 2014).

Findings from animal model studies also implicate dysregulation of the TCA cycle in mental illness. Valvassori et al. (2014) found reduced levels of the TCA cycle enzyme citrate synthase, succinate dehydrogenase, and malate dehydrogenase in the prefrontal cortex, hippocampus, and striatum in amphetamine-treated rats, a commonly employed animal model of mania. Further, these reduced levels were associated with behavioral hyperactivity.

Oxidative Stress Markers

The role of oxidative stress in BD pathophysiology has been investigated in several studies. Increased neuronal oxidative stress produces deleterious effects on signal transduction, plasticity, and cell resilience (Olmez and Ozyurt, 2012), which can induce mitochondrial dysfunctions and reduce ETC activity that can be measured in the peripheral blood and postmortem brains of BD patients (De Sousa et al., 2014b; Valvassori et al., 2018). BD is characterized by alterations in CAT, SOD, and GSH-Px activity, NO, and GSH levels, DNA damage, and lipid peroxidation (Gawryluk et al., 2011; Tunçel et al., 2015). Although there is a great deal of work demonstrating serum changes in antioxidant enzymes across all BD stages, these findings are conflicting. Because of these discrepant results, these enzymes cannot yet be used as BD biomarkers, but may nonetheless be useful for evaluating disease stages (Gama et al., 2013).

As related above, studies in animals and humans have reported that increased oxidative damage reduced BDNF expression. However, BDNF has been shown to stimulate the expression and activities of GSH-Px and SOD; resulting in reduced oxidative damage (He and Katusic, 2012; Valvassori et al., 2015; Wang et al., 2020).

Clinical studies in individuals with schizophrenia or BD, provide an empirical basis for hypothesizing that abnormal BDNF and oxidative stress regulation observed in these disorders are inter-related (Fernandes et al., 2011; Zhang et al., 2015; Mansur et al., 2016). However, two recent studies reported that patients with BD exhibited a negative association between serum BDNF levels and lipid peroxidation (Tsai and Huang, 2015; Newton et al., 2017). Also, studies in schizophrenic populations observed a positive correlation between BDNF and TBARS, and a negative association between BDNF and SOD activity (Gama et al., 2008; Zhang et al., 2015). Nonetheless, there is significant heterogeneity in results within and across studies of these systems, which limits the generalizability of the findings. For example, metabolic comorbidities, obesity, and impaired glucose metabolism affect the activities of BDNF and antioxidant enzymes (Tinahones et al., 2009). Studies have demonstrated increased serum SOD activity in patients during manic or depressive episodes (Kunz et al., 2008). Increased SOD activity has been reported in medicated or unmedicated patients during manic episodes (Salim et al., 2011) and acute BD episodes, but not in euthymic patients (Singh et al., 2010). One study found CAT increases in euthymic and manic patients regardless of medication status (Steckert et al., 2010). In contrast, another found that CAT was decreased in euthymic patients but increased in unmedicated manic patients (Raffa et al., 2012). Halliwell (2006) reported increased SOD, CAT, and GSH-Px in patients during manic and depressive BD episodes.

Conversely, Vasconcelos-Moreno et al. (2017) found that GSH-Px activity was reduced in euthymic BD I patients compared to controls. A meta-analysis that included 27 studies, with 971 patients, measured eight peripheral oxidative stress markers in BD. Markers of lipid peroxidation, DNA/RNA damage, and NO were significantly increased in all stages in BD I/II patients compared to healthy controls (Brown et al., 2014; Scola et al., 2016). Andreazza et al. (2010) reported higher levels of mitochondrial protein oxidation in patients with BD, whereas another meta-analysis concluded that TBA-RS levels might be higher during manic or depressive episodes than during remission. Additionally, NO concentrations were elevated in BD patients regardless of mood state (Savas et al., 2006; Siwek et al., 2016).

CONCLUSION

Clinical and animal studies have identified multiple promising BD biomarkers that may be related to neuroinflammation, and that may alter its concentrations throughout mood episodes, showing that patients can present increased systemic toxicity during manic and depressive episodes, compared to euthymic patients (Kapczinski et al., 2010, 2011). Despite the systemic toxicity and consequent allostatic overload associated with BD, a causal link between these characteristics has yet to be established. However, the co-occurrence of acute BD episodes, clinical comorbidities, and substance abuse indicates that initial allostatic loading can produce a long-term overload effect. This state of chronic systemic toxicity occurs mainly by the dysregulation of cytokine signaling and the consequent mitochondrial oxidative stress, producing neuroinflammation, which leads to decreased BDNF expression. This observation supports the neuroprogression hypothesis and may explain, at least partially, the deficits associated with chronic BD. However, the mechanisms contributing to lower BDNF are not yet fully understood. It has been suggested that the methylation of BDNF gene promoters, can epigenetically modulate BDNF transcription and that mitochondrial oxidative stress and cytokine levels may alter the binding of nuclear transcription factors (Martinowich et al., 2003). Also, as related above, the brain is particularly susceptible to oxidative damage due to its high rate of oxygen use, lipid constitution, and low antioxidant defenses. In BD, the prevailing hypothesis is that a fundamental disturbance in mitochondrial functions generates a higher oxidative stress load. Changes in Complexes I, II, and III paired with reduced GSH levels have been

detected in BD (Andreazza et al., 2010). Further, significant increases in SOD, CAT, and GSH-Px activities have been found, suggesting the induction of compensatory mechanisms to counter the pro-oxidative state. NO levels and oxidative damage to lipids have also been identified as potential systemic toxicity markers in BD patients (Andreazza et al., 2009). These findings support the vital contribution of oxidative stress to BD neuroinflammation, and the clinical neuroprogression, justifying the research on antioxidant mechanisms as new therapeutic strategies (Pandya et al., 2013). Thus, it is hypothesized that the treatment with stabilizers drugs during the early stages of BD, may be beneficial by offering neuroprotection and slowing systemic toxicity progression through the increasing of BDNF. Also, this toxicity may be linked to age and the number of episodes. With each episode, lower BDNF levels result in more significant cognitive impairment and reduced functionality, further reducing the chances of returning to euthymia. Indeed the number of episodes has a more significant impact on disease evolution, than the patient's age (Passos et al., 2016; Scussel et al., 2016).

Thus, based on our improved understanding of the neuroinflammation and neuroprogression, it is reasonable to speculate that combinations of biomarkers for different pathophysiological processes of BD, will 1 day help predict disease evolution, treatment response, and long-term outcomes (Goldberg and Harrow, 2004). However, the interactions among biomarkers are complex and, as of yet, cannot predict an outcome. Thus, as questioned by Vinberg (2020), in a recent article, the search for peripheral biomarkers in psychiatry is like searching for the needles in a haystack.

Thereby, this review sought to clarify some pathophysiological mechanisms of BD, focusing mainly on the energetic metabolism of brain cells and their correlation with mental diseases.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

LC and DD: conception of the idea, drafting and revising the article and revising the article and correspondence. LC, OU, and TM: bibliographic research and main drafting. OU: elaboration of figures. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

This work was supported by grants from Universidade da Região de Joinville and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico—CNPq (Brazil).

REFERENCES

Ademowo, O. S., Dias, H., Burton, D., and Griffiths, H. R. (2017). Lipid (per) oxidation in mitochondria: an emerging target in the ageing process? *Biogerontology* 18, 859–879. doi: 10.1007/s10522-017-9710-z

Aguzzi, A., Barres, B. A., and Bennett, M. L. (2013). Microglia: scapegoat, saboteur, or something else? *Science* 339, 156–161. doi: 10.1126/science.1227901

Ajami, B., Bennett, J. L., Krieger, C., McNagny, K. M., and Rossi, F. M. V. (2011). Infiltrating monocytes trigger EAE progression, but do not contribute to the resident microglia pool. *Nat. Neurosci.* 14, 1142–1149. doi: 10.1038/nn.2887

Akula, N., Wendland, J. R., Choi, K. H., and McMahon, F. J. (2015). An integrative genomic study implicates the post-synaptic density in the pathogenesis of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 41, 886–895. doi: 10.1038/npp.2015.218

Alvarez-Paggi, D., Hannibal, L., Castro, M. A., Oviedo-Rouco, S., Demicheli, V., Tórtora, V., et al. (2017). Multifunctional cytochrome c: learning New tricks from an old dog. *Chem. Rev.* 117, 13382–13460. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00257

Andreazza, A. C., Kapczinski, F., Kauer-Sant'Anna, M., Walz, J. C., Bond, D. J., Gonçalves, C. A., et al. (2009). 3-Nitrotyrosine and glutathione antioxidant system in patients in the early and late stages of bipolar disorder. *J. Psychiatry Neurosci.* 34, 263–271. Available online at: http://jpn.ca/wp-content/uploads/2014/04/34-4-263.pdf.

Andreazza, A. C., Shao, L., Wang, J. F., and Young, L. T. (2010). Mitochondrial complex I activity and oxidative damage to mitochondrial proteins in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder. *Arch. Gen. Psychiatry* 67, 360–368. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.22

Angrimani, D., Losano, J. D., Rui, B., Bicudo, L. C., De Andrade, A., Arruda, R., et al. (2015). E.C.C. Ferramentas para avaliação da funcionalidade da mitocôndria espermática. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 39, 277–283. Available online at: http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n2/pag277-283%20%28RB581%29.pdf.

Arcuri, C., Mecca, C., Bianchi, R., Giambanco, I., and Donato, R. (2017). The pathophysiological role of microglia in dynamic surveillance, phagocytosis and structural remodeling of the developing CNS. *Front. Mol. Neurosci.* 10:191. doi: 10.3389/fnmol.2017.00191

Askew, K., Li, K., Olmos-Alonso, A., Garcia-Moreno, F., Liang, Y., Richardson, P., et al. (2017). Coupled proliferation and apoptosis maintain the rapid turnover of microglia in the adult brain. *Cell Rep.* 18, 391–405. doi: 10.1016/j.celrep.2016.12.041

Attwell, D., and Laughlin, S. B. (2001). An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 21, 1133–1145. doi: 10.1097/00004647-200110000-00001

Bachiller, S., Jiménez-Ferrer, I., Paulus, A., Yang, Y., Swanberg, M., Deierborg, T., et al. (2018). Microglia in neurological diseases: a road map to brain-disease dependent-inflammatory response. *Front. Cell. Neurosci.* 12:488. doi: 10.3389/fncel.2018.00488

Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. C. G., De Paula, S. O., Minim Valéria, P. R., and Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição* 23, 629–643. doi: 10.1590/S1415-52732010000400013

Barbosa, I. G., Huguet, R. B., Mendonça, V. A., Sousa, L. P., Neves, F. S., Bauer, M. E., et al. (2011a). Increased plasma levels of soluble TNF receptor I in patients with bipolar disorder. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 261, 139–143. doi: 10.1007/s00406-010-0116-z

Barbosa, I. G., Huguet, R. B., Sousa, L. P., Abreu, M. N., Rocha, N. P., Bauer, M. E., et al. (2011b). Circulating levels of GDNF in bipolar disorder. *Neurosci. Lett.* 15, 103–106. doi: 10.1016/j.neulet.2011.07.031

Barnett, J. H., and Smoller, J. W. (2009). The genetics of bipolar disorder. *Neuroscience* 164, 331–343. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.03.080

Barr, C. M., Manning, J., Lewis, C. A. B., Rossi, F. M. V., and Krieger, C. (2015). Sub myeloablative conditioning with busulfan permits bone marrow-derived cell accumulation in a murine model of Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 588, 196–201. doi: 10.1016/j.neulet.2015.01.023

Barreiros, A. L. B. S., David, J. M., and David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova* 29, 113–123. doi: 10.1590/S0100-40422006000100021

Barsegyan, A., Mackenzie, S. M., Kurose, B. D., McGaugh, J. L., and Roozendaal, B. (2010). Glucocorticoids in the prefrontal cortex enhance memory consolidation and impair working memory by a common neural mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 107, 16655–16660. doi: 10.1073/pnas.1011975107

Benito, E., and Barco, A. (2010). CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models. *Trends Neurosci.* 33, 230–240. doi: 10.1016/j.tins.2010.02.001

Bentinger, M., Tekle, M., and Dallner, G. (2010). Coenzyme Q—biosynthesis and functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 21, 74–79. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.02.147

Berk, M., Kapczinski, F., Andreazza, A. C., Dean, O. M., Giorlando, F., Maes, M., et al. (2011). Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 804–817. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.10.001

Berk, M., Malhi, G. S., Hallam, K., Gama, C. S., Dodd, S., Andreazza, A. C., et al. (2009). Early intervention in bipolar disorders: clinical, biochemical and neuroimaging imperatives. *J. Affect Disord* 114, 1–13. doi: 10.1016/j.jad.2008.08.011

Berk, M., Williams, L. J., Jacka, F. N., O'Neil, A., Pasco, J. A., Moylan, S., et al. (2013). So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from? *BMC Med.* 11:200. doi: 10.1186/1741-7015-11-200

Bhattacharya, A., Derecki, N. C., Lovenberg, T. W., and Drevets, W. C. (2016). Role of neuro-immunological factors in the pathophysiology of mood disorders. *Psychopharmacology* 233, 1623–1636. doi: 10.1007/s00213-016-4214-0

Björkholm, P., Harish, A., Hagström, E., Ernst, A. M., and Andersson, S. G. E. (2015). Mitochondrial genomes are retained by selective constraints on protein targeting. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 112, 10154–10161. doi: 10.1073/pnas.1421372112

Blass, J. P., and Brown, A. M. (2000). Lower activity of Krebs cycle enzymes than of electron transport in human brain: disease implications. *Neurobiol. Aging* 21:81. doi: 10.1016/S0197-4580(00)82590-7

Borges, S. Q., Corrêa, T. X., Trindade, I. O. A., Amorim, R. F. B., and Toledo, M. A. V. (2019). Cognitive impairment in bipolar disorder Neuroprogression or behavioral variant frontotemporal dementia? *Dement. Neuropsychol.* 13, 475–480. doi: 10.1590/1980-57642018dn13-040016

Brendecke, S. M., and Prinz, M. (2015). Do not judge a cell by its cover—diversity of CNS resident, adjoining and infiltrating myeloid cells in inflammation. *Semin. Immunopathol.* 37, 591–605. doi: 10.1007/s00281-015-0520-6

Brietzke, E., Kauer-Sant'Anna, M., Teixeira, A. L., and Kapczinsk, F. (2009a). Abnormalities in serum chemokine levels in euthymic patients with bipolar disorder. *Brain Behav. Immun.* 23, 1079–1082. doi: 10.1016/j.bbi.2009.04.008

Brietzke, E., Kauer-Sant'Anna, M., Teixeira, A. L., and Kapczinsk, F. (2009b). Comparison of cytokine levels in depressed, manic and euthymic patients with bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 116, 214–217. doi: 10.1016/j.jad.2008.12.001

Brown, N. C., Andreazza, A. C., and Young, L. T. (2014). An updated meta-analysis of oxidative stress markers in bipolar disorder. *Psychiatry Res.* 218, 61–68. doi: 10.1016/j.psychres.2014.04.005

Bubber, P., Hartounian, V., Gibson, G. E., and Blass, J. P. (2011). Abnormalities in the tricarboxylic acid (TCA) cycle in the brains of schizophrenia patients. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 21, 254–260. doi: 10.1016/j.euroneuro.2010.10.007

Bubber, P., Tang, J., Haroutunian, V., Xu, H., Davis, K. L., Blass, J. P., et al. (2004). Mitochondrial enzymes in schizophrenia. *J. Mol. Neurosci.* 24, 315–321. doi: 10.1385/JMN:24:2:315

Byrne, M. L., Whittle, S., and Allen, N. B. (2016). The role of brain structure and function in the association between inflammation and depressive symptoms: a systematic review. *Psychosom. Med.* 78, 389–400. doi: 10.1097/PSY.0000000000000311

Cardona, A. E., Pioro, E. P., Sasse, M. E., Kostenko, V., Cardona, S. M., Dijkstra, I. M., et al. (2006). Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor. *Nat. Neurosci.* 9, 917–924. doi: 10.1038/nn1715

Carlezon, W. A. Jr., Duman, R. S., and Nestler, E. J. (2005). The many faces of CREB. *Trends Neurosci.* 28, 436–445. doi: 10.1016/j.tins.2005.06.005

Cataldo, A. M., McPhie, D. L., Lange, N. T., Punzell, S., Elmiligy, S., Ye, N. Z., et al. (2010). Abnormalitiesin mitochondrial structure in cells from patients with bipolar disorder. *Am. J. Pathol.* 177, 575–585. doi: 10.2353/ajpath.2010.081068

Cavalcanti, J. H. F., Esteves-Ferreira, A. A., Quinhones, C. G. S., Pereira-Lima, I. A., Nunes-Nesi, A., Fernie, A. R., et al. (2014). Evolution and functional implications of the tricarboxylic acid cycle as revealed by phylogenetic analysis. *Genome Biol. Evol.* 6, 2830–2848. doi: 10.1093/gbe/evu221

Chawla, A. (2010). Control of macrophage activation and function by PPARs. *Circ. Res.* 106, 1559–1569. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.216523

Chen, G. Y., and Nuñez, G. (2010). Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat. Rev. Immunol.* 10, 826–837. doi: 10.1038/nri2873

Chu, C. T. (2019). Multiple pathways for mitophagy: a neurodegenerative conundrum for Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* 1, 66–71. doi: 10.1016/j.neulet.2018.04.004

Clemente, A. S., Diniz, B. S., Nicolato, R., Kapczinski, F. P., Soares, J. C., Firmo, J. O., et al. (2015). Bipolar disorder prevalence: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Braz. J. Psychiatry* 37, 155–161. doi: 10.1590/1516-4446-2012-1693

Collin, F. (2019). Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 20:2407. doi: 10.3390/ijms20102407

Colton, C. A. (2009). Heterogeneity of microglial activation in the innate immune response in the brain. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 4, 399–418. doi: 10.1007/s11481-009-9164-4

Colucci-D'Amato, L., Speranza, L., and Volpicelli, F. (2020). Neurotrophic factor BDNF, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 21:7777. doi: 10.3390/ijms21207777

Cooper, G. M., and Hausman, R. E. (2006). *The Cell: A Molecular Approach*, 4th Edn. Sunderland: American Society for Microbiology.

Corena-McLeod, M., Walss-Bass, C., Oliveros, A., Gordillo Villegas, A., Ceballos, C., and Charlesworth, C. M. (2013). New model of action for mood stabilizers: phosphoproteome from rat pre-frontal cortex synaptoneurosomal preparations. *PLoS One* 8:e52147. doi: 10.1371/journal.pone.0052147

Cronan, J. E. Jr., and Laporte, D. (2005). Tricarboxylic acid cycle and glyoxylate bypass. *EcoSal Plus* doi: 10.1128/ecosalplus.3.5.2. [Epub ahead of print].

Davies, L. C., and Taylor, P. R. (2015). Tissue-resident macrophages: then and now. *Immunology* 144, 541–548. doi: 10.1111/imm.12451

De Sousa, R. T., Machado-Vieira, R., Zarate, C. A. Jr., and Manji, H. K. (2014a). Targeting mitochondrially mediated plasticity to develop improved therapeutics for bipolar disorder. *Expert Opin. Ther. Targets* 18, 1131–1147. doi: 10.1517/14728222.2014.940893

De Sousa, R. T., Machado-Vieira, R., Zarate, C. A. Jr., and Manji, H. K. (2014b). Targeting mitochondria disorder. *Expert Opin. Ther. Targets* 18, 1131–1147. doi: 10.1517/14728222.2014.940893

de Sousa, R. T., Streck, E. L., Forlenza, O. V., Brunoni, A. R., Zanetti, M. V., Ferreira, G. K., et al. (2015). Regulation of leukocyte tricarboxylic acid cycle in drug-naïve Bipolar Disorder. *Neurosci. Lett.* 605, 65–68. doi: 10.1016/j.neulet.2015.08.022

Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., and Victor, V. M. (2016). Role of ROS RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016:1245049. doi: 10.1155/2016/1245049

Dong, X.-H., and Zhen, X.-C. (2015). Glial pathology in bipolar disorder: potential therapeutic implications. *CNS Neurosci. Ther.* 21, 393–397. doi: 10.1111/cns.12390

Duffy, A., Alda, M., Hajek, T., Sherry, S. B., and Grof, P. (2010). Early stages in the development of bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 121, 127–135. doi: 10.1016/j.jad.2009.05.022

Enriquez, J. A. (2016). Supramolecular organization of respiratory complexes. *Annu. Rev. Physiol.* 78, 533–561. doi: 10.1146/annurev-physiol-021115-105031

Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., et al. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol.* 6, 183–197. doi: 10.1016/j.redox.2015.07.008

Federico, A., Cardaioli, E., Da Pozzo, P., Formichi, P., Gallus, G. N., and Radi, E. (2012). Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *J. Neurol. Sci.* 322, 254–262. doi: 10.1016/j.jns.2012.05.030

Fernandes, B. S., Gama, C. S., Cereser, K. M., Yatham, L. N., Fries, G. R., Colpo, G., et al. (2011). Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: a systematic review and meta-regression analysis. *J. Psychiatr. Res.* 45, 995–1004. doi: 10.1016/j.jpsychires.2011.03.002

Fernandes, B. S., Gama, C. S., Walz, J. C., Cereser, K. A., Fries, G. R., Colpo, G., et al. (2010). Increased neurotrophin-3 in drug-free subjects with bipolar disorder during manic and depressive episodes. *J. Psychiatr. Res.* 44, 561–565. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.11.020

Fernandes, B., Gama, C., Kauer-Sant'Anna, M., Lobato, M., Belmonte-de-Abreu, P., and Kapczinski, F. (2009). Serum brain-derived neurotrophic factor in bipolar and unipolar depression: a potential adjunctive tool for differential diagnosis. *J. Psychiatr. Res.* 43, 1200–1204. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.04.010

Fernandes, B. S., Molendijk, M. L., Köhler, C. A., Soares, J. C., Leite, C. M., Machado-Vieira, R., et al. (2015). Peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a biomarker in bipolar disorder: a meta-analysis of 52 studies. *BMC Med.* 13:289. doi: 10.1186/s12916-015-0529-7

Föcking, M., Dicker, P., Lopez, L. M., Hryniewiecka, M., Wynne, K., English, J. A., et al. (2016). Proteomic analysis of the postsynaptic density implicate synaptic function and energy pathways in bipolar disorder. *Transl. Psychiatry* 6:e959. doi: 10.1038/tp.2016.224

Forero, D., Herteleer, L., Zutter, S., Norrback, K., Nilsson, L., Adolfsson, R., et al. (2016). A network of synaptic genes associated with schizophrenia and bipolar disorder. *Schizophr. Res.* 172, 68–74. doi: 10.1016/j.schres.2016.02.012

Formanova, P. P., Palus, M., Salat, J., Hönig, V., Stefanik, M., Svoboda, P., et al. (2019). Changes in cytokine and chemokine profiles in mouse serum and brain and in human neural cells, upon tick-borne encephalitis virus infection. *J. Neuroinflammation* 16:205. doi: 10.1186/s12974-019-1596-z

Forrest, M. P., Parnell, E., and andPenzes, P. (2018). Dendritic structural plasticity and neuropsychiatric disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 19, 215–234. doi: 10.1038/nrn.2018.16

Frank, E., Nimgaonkar, V. L., Phillips, M. L., and Kupfer, D. J. (2014). All the world's a (clinical) stage: rethinking bipolar disorder from a longitudinal perspective. *Mol. Psychiatry* 20, 23–31. doi: 10.1038/mp.2014.71

Fregnan, F., Muratori, L., Simões, A. R., Giacobini-Robecchi, M. G., and Raimondo, S. (2012). Role of inflammatory cytokines in peripheral nerve injury. *Neural Regen. Res.* 7, 2259–2266. doi: 10.3969/j.issn.1673-5374.2012.29.003

Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., et al. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat. Med.* 25, 1822–1832. doi: 10.1038/s41591-019-0675-0

Gama, C. S., Berk, M., Andreazza, A. C., Kapczinski, F., and Belmonte-de-Abreu, P. (2008). Serum levels of brain-derived neurotrophic factor and thiobarbituric acid reactive substances in chronically medicated schizophrenic patients: a positive correlation. *Braz. J. Psychiatry* 30, 337–340. doi: 10.1590/s1516-44462008000400006

Gama, C. S., Kunz, M., Magalhães, P. V. S., and Kapczinski, F. (2013). Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. *Braz. J. Psychiatry* 35, 70–74. doi: 10.1016/j.rbp.2012.09.001

Ganzel, B. L., Morris, P. A., and andWethington, E. (2010). Allostasis and the human brain: integrating models of stress from the social and life sciences. *Psychol. Rev.* 117, 134–174. doi: 10.1037/a0017773

Ganzola, R., and Duchesne, S. (2017). Voxel-based morphometry meta-analysis of gray and white matter finds significant areas of differences in bipolar patients from healthy controls. *Bipolar Disord.* 19, 74–83. doi: 10.1111/bdi.12488

Garcia, I., Jones, E., Ramos, M., Innis-Whitehouse, W., and Gilkerson, R. (2017). The little big genome: the organization of mitochondrial DNA. *Front. Biosci.* 22, 710–721. doi: 10.2741/4511

Gawryluk, J. W., Wang, J.-F., Andreazza, A. C., Shao, L., and Young, L. T. (2011). Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 14, 123–130. doi: 10.1017/S1461145710000805

Geissmann, F., Gordon, S., Hume, D. A., Mowat, A. M., and Randolph, G. J. (2010). Unraveling mononuclear phagocyte heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.* 10, 453–460. doi: 10.1038/nri2784

Ghezzi, D., and Zeviani, M. (2012). Assembly factors of human mitochondrial respiratory chain complexes: physiology and pathophysiology. *Adv. Exp. Med. Biol.* 748, 65–106. doi: 10.1007/978-1-4614-3573-0_4

Gill, S. S., and Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant. Physiol. Biochem.* 48, 909–930. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Ginhoux, F., and Guilliams, M. (2016). Tissue-resident macrophage ontogeny and homeostasis. *Immunity* 44, 439–449. doi: 10.1016/j.immuni.2016.02.024

Ginhoux, F., Greter, M., Leboeuf, M., Nandi, S., See, P., Gokhan, S., et al. (2010). Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* 330, 841–845. doi: 10.1126/science.1194637

Ginhoux, F., Schultze, J. L., Murray, P. J., Ochando, J., and Biswas, S. K. (2016). New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function. *Nat. Immunol.* 17, 34–40. doi: 10.1038/ni.3324

Goldberg, J. F., and Harrow, M. (2004). Consistency of remission and outcome in bipolar and unipolar mood disorders: a 10-year prospective follow-up. *J. Affect. Disord.* 81, 123–131. doi: 10.1016/S0165-0327(03)00161-7

Goldmann, T., Wieghofer, P., Müller, P. F., Wolf, Y., Varol, D., Yona, S., et al. (2013). A new type of microglia gene targeting shows TAK1 to be pivotal in CNS autoimmune inflammation. *Nat. Neurosci.* 16, 1618–1626. doi: 10.1038/nn.3531

Goldmann, T., Wieghofer, P., Jordão, M. J. C., Prutek, F., Hagemeyer, N., Frenzel, K., et al. (2016). Origin, fate and dynamics of macrophages at central nervous system interfaces. *Nat. Immunol.* 17, 797–805. doi: 10.1038/ni.3423

Goldsmith, D. R., Rapaport, M. H., and Miller, B. J. (2016). A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol. Psychiatry* 21, 1696–1709. doi: 10.1038/mp.2016.3

Gomez Perdiguero, E., Klapproth, K., Schulz, C., Busch, K., Azzoni, E., Crozet, L., et al. (2015). Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature* 518, 547–551. doi: 10.1038/nature13989

Gomez-Nicola, D., Riecken, K., Fehse, B., and Perry, V. H. (2014). In-vivo RGB marking and multicolor single-cell tracking in the adult brain. *Sci. Rep.* 4:7520. doi: 10.1038/srep07520

Goodwin, F. K., and Jamison, K. R. (2007). *Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression*. New York, NY: Oxford University Press. Available online at: https://global.oup.com/academic/product/manic-depressive-illness-9780195135794?cc=usandlang=enand.

Gould, E. (2007). How widespread is adult neurogenesis in mammals? *Nat. Rev. Neurosci.* 8, 481–488. doi: 10.1038/nrn2147

Grande, I., Magalhães, P. V., Kunz, M., Vieta, E., and Kapczinski, F. (2012). Mediators of allostasis and systemic toxicity in bipolar disorder. *Physiol. Behav.* 106, 46–50. doi: 10.1016/j.physbeh.2011.10.029

Gray, L. R., Tompkins, S. C., and Taylor, E. B. (2014). Regulation of pyruvate metabolism and human disease. *Cell. Mol. Life Sci* 71, 2577–2604doi: 10.1007/s00018-013-1539-2

Gulati, K. J., Guhathakurta, S.-H., Joshi, J., Rai, N., and Ray, A. (2016). Cytokines and their role in health and disease: a brief overview. *Moj Immunol.* 4:00121. doi: 10.15406/moji.2016.04.00121

Hall, B. S., Moda, R. N., and Liston, C. (2015). Glucocorticoid mechanisms of functional connectivity changes in stress-related neuropsychiatric disorders. *Neurobiol. Stress* 1, 74–83. doi: 10.1016/j.ynstr.2014.10.008

Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141, 312–322. doi: 10.1104/pp.106.077073

Hamdani, N., Doukhan, R., Kurtlucan, O., Tamouza, R., and Leboyer, M. (2013). Immunity, inflammation, and bipolar disorder: diagnostic and therapeutic implications. *Curr. Psychiatry Rep.* 15:387. doi: 10.1007/s11920-013-0387-y

Hamdani, N., Tamouza, R., and Leboyer, M. (2012). Immuno-inflammatory markers of bipolar disorder: a review of evidence. *Front. Biosci.* 4, 2170–2182. doi: 10.2741/534

Hashimoto, K. (2010). Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: an historical overview and future directions. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 64, 341–357. doi: 10.1111/j.1440-1819.2010.02113.x

He, T., and Katusic, Z. S. (2012). Brain-derived neurotrophic factor increases expression of MnSOD in human circulating angiogenic cells. *Microvasc. Res.* 83, 366–371. doi: 10.1016/j.mvr.2012.01.001

He, H., Mack, J. J., Güç, E., Warren, C. M., Squadrito, M. L., Kilarski, W. W., et al. (2016). Perivascular macrophages limit permeability. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 36, 2203–2212. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307592

Hei, M., Chen, P., Wang, S., Li, X., Xu, M., Zhu, X., et al. (2019). Effects of chronic mild stress-induced depression on synaptic plasticity in mouse hippocampus. *Behav. Brain Res.* 3, 26–35. doi: 10.1016/j.bbr.2019.02.044

Hellwig, S., Heinrich, A., and Biber, K. (2013). The brain's best friend: microglial neurotoxicity revisited. *Front. Cell. Neurosci.* 7:71. doi: 10.3389/fncel.2013.00071

Heneka, M. T., Rodriguez, J. J., and Verkhratsky, A. (2010). Neuroglia in neurodegeneration. *Brain Res. Rev.* 63, 189–211. doi: 10.1016/j.brainresrev.2009.11.004

Herz, J., Filiano, A. J., Smith, A., Yogev, N., and Kipnis, J. (2017). Myeloid cells and their relationship with the central nervous system. *Immunity* 46, 943–956. doi: 10.1016/j.immuni.2017.06.007

Hickey, W. F., Vass, K., and Lassmann, H. (1992). Bone marrow-derived elements in the central nervous system: an immunohistochemical and ultrastructural survey of rat chimeras. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 51, 246–256. doi: 10.1097/00005072-199205000-00002

Hoek, R. M., Ruuls, S. R., Murphy, C. A., Wright, G. J., Goddard, R., Zurawski, S. M., et al. (2000). Down-regulation of the macrophage lineage through interaction with OX2 (CD200). *Science* 290, 1768–1771. doi: 10.1126/science.290.5497.1768

Hoertel, N., Le Strat, Y., Angst, J., and Dubertret, C. (2013). Subthreshold bipolar disorder in a U.S. national representative sample: prevalence, correlates and perspectives for psychiatric nosography. *J. Affect. Disord.* 146, 338–347. doi: 10.1016/j.jad.2012.09.016

Hope, S., Melle, I., Aukrust, P., Steen, N. E., Birkenaes, A. B., Lorentzen, S., et al. (2009). Similar immune profile in bipolar disorder and schizophrenia: selective increase in soluble tumor necrosis factor receptor I and von Willebrand factor. *Bipolar Disord.* 11, 726–734. doi: 10.1111/j.1399-5618.2009.00757.x

Hoyo-Becerra, C., Schlaak, J. F., and Hermann, D. M. (2014). Insights from interferon-α-related depression for the pathogenesis of depression associated with inflammation. *Brain Behav. Immun.* 42, 222–231. doi: 10.1016/j.bbi.2014.06.200

Huberman, A. D., and McAllister, A. K. (2002). Neurotrophins and visual cortical plasticity. *Prog. Brain Res.* 138, 39–51. doi: 10.1016/S0079-6123(02)38069-5

Ighodaro, O. M., and Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandr. J. Med.* 54, 287–293. doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001

Irwin, M. R., and Cole, S. W. (2011). Reciprocal regulation of the neural and innate immune systems. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 625–632. doi: 10.1038/nri3042

Ivannikov, M. V., Sugimori, M., and Llinás, R. R. (2013). Synaptic vesicle exocytosis in hippocampal synaptosomes correlates directly with total mitochondrial volume. *J. Mol. Neurosci.* 49, 223–230. doi: 10.1007/s12031-012-9848-8

Jacoby, A. S., Munkholm, K., Vinberg, M., Pedersen, B. K., and Kessing, L. V. (2016). Cytokines, brain-derived neurotrophic factor and C-reactive protein in bipolar I disorder—results from a prospective study. *J. Affect. Disord.* 197, 167–174. doi: 10.1016/j.jad.2016.03.040

Jakubzick, C., Gautier, E. L., Gibbings, S. L., Sojka, D. K., Schlitzer, A., Johnson, T. E., et al. (2013). Minimal differentiation of classical monocytes as they survey steady-state tissues and transport antigen to lymph nodes. *Immunity* 39, 599–610. doi: 10.1016/j.immuni.2013.08.007

Jansen, K., Mondin, T. C., Cardoso, T. A. C., Ores, L. C., Souza, L. D. M. S., Pinheiro, R. T., et al. (2013). Quality of life and mood disorder episodes: community sample. *J. Affect. Disord.* 147, 123–127. doi: 10.1016/j.jad.2012.10.021

Jayasinghe, S. U., Lambert, G. W., Torres, S. J., Fraser, S. F., Eikelis, N., and Turner, A. I. (2015). Hypothalamo-pituitary adrenal axis and sympatho-adrenal medullary system responses to psychological stress were not attenuated in women with elevated physical fitness levels. *Endocrine* 51, 369–379. doi: 10.1007/s12020-015-0687-6

Jeeva, J. S., Sunitha, J., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M., and Krishnan, R. (2015). Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 7, 331–333. doi: 10.4103/0975-7406.163438

Joëls, M., Pasricha, N., and Karst, H. (2013). The interplay between rapid and slow corticosteroid actions in the brain. *Eur. J. Pharmacol.* 719, 44–52. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.07.015

Joëls, M., Sarabdjitsingh, R. A., and Karst, H. (2012). Unraveling the time domains of corticosteroid hormone influences on brain activity: rapid, slow, and chronic modes. *Pharmacol. Rev* 64, 901–938. doi: 10.1124/pr.112.005892

Juster, R. P., Smith, N. G., Ouellet, É., Sindi, S., and Lupien, S. J. (2013). Sexual orientation and disclosure in relation to psychiatric symptoms, diurnal cortisol, and allostatic load. *Psychosom. Med.* 75, 103–116. doi: 10.1097/PSY.0b013e3182826881

Kamiński, M. M., Röth, D., Krammer, P. H., and Gülow, K. (2013). Mitochondria as oxidative signaling organelles in T-cell activation: physiological role and pathological implications. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 61, 367–384. doi: 10.1007/s00005-013-0235-0

Kandel, E. R. (2001). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294, 1030–1038. doi: 10.1126/science.1067020

Kang, Y., Fielden, L. F., and Stojanovski, D. (2018). Mitochondrial protein transport in health and disease. *Semin. Cell Dev. Biol.* 76, 142–153. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.028

Kany, S., Vollrath, J. T., and Relja, B. (2019). Cytokines in inflammatory disease. *Int. J. Mol. Sci.* 20:6008. doi: 10.3390/ijms20236008

Kapczinski, F., Dal-Pizzol, F., Teixeira, A. L., Magalhaes, P. V. S., Kauer-Sant'Anna, M., Klamt, F., et al. (2011). Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J. Psychiatr. Res.* 45, 156–161. doi: 10.1016/j.jpsychires.2010.05.015

Kapczinski, F., Dal-Pizzol, F., Teixeira, A., Magalhaes, P. V. S., Kauer-Sant'Anna, M., Klamt, F., et al. (2010). A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes. *Mol. Psychiatry* 15, 784–786. doi: 10.1038/mp.2009.112

Kapczinski, F., and Streb, L. G. (2014). Neuroprogression and staging in psychiatry: historical considerations. *Braz. J. Psychiatry* 36, 187–188. doi: 10.1590/1516-4446-2014-3605

Kaplan, D. R., and Miller, F. D. (2000). Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr. Opin. Neurobiol.* 10, 381–391. doi: 10.1016/s0959-4388(00)00092-1

Kato, T. (2017). Neurobiological basis of bipolar disorder: mitochondrial dysfunction hypothesis and beyond. *Schizophr. Res.* 187, 62–66. doi: 10.1016/j.schres.2016.10.037

Kato, T., and Iwamoto, K. (2014). Comprehensive DNA methylation and hydroxymethylation analysis in the human brain and its implication in mental disorders. *Neuropharmacology* 80, 133–139. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.12.019

Kato, T. A., Yamauchi, Y., Horikawa, H., Monji, A., Mizoguchi, Y., Seki, Y., et al. (2013). Neurotransmitters, psychotropic drugs and microglia: clinical implications for psychiatry. *Curr. Med. Chem.* 20, 331–344. doi: 10.2174/092986731320030003

Kauer-Sant'Anna, M., Kapczinski, F., Andreazza, A. C., Bond, D. J., Lam, R. W., Young, L. T., et al. (2009). Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 12, 447–458. doi: 10.1017/S1461145708009310

Kausar, S., Wang, F., and Cui, H. (2018). The role of mitochondria in reactive oxygen species generation and its implications for neurodegenerative diseases. *Cells* 7:274. doi: 10.3390/cells7120274

Kawabori, M., and Yenari, M. A. (2014). The role of the microglia in acute CNS injury. *Metab. Brain Dis.* 30, 381–392. doi: 10.1007/s11011-014-9531-6

Kempton, M. J., Geddes, J. R., Ettinger, U., Williams, S. C., and Grasby, P. M. (2008). Meta-analysis, database, and meta-regression of 98 structural imaging studies in bipolar disorder. *Arch. Gen. Psychiatry* 65, 1017–1032. doi: 10.1001/archpsyc.65.9.1017

Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Merikangas, K. R., and Walters, E. E. (2005). Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the national comorbidity survey replication. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 593–602. doi: 10.1001/archpsyc.62.6.593

Kettenmann, H., Hanisch, U.-K., Noda, M., and Verkhratsky, A. (2011). Physiology of microglia. *Physiol. Rev.* 91, 461–553. doi: 10.1152/physrev.00011.2010

Klerdorf, K., Katzmarski, N., Haas, C. A., and Prinz, M. (2013). Bone marrow cell recruitment to the brain in the absence of irradiation or parabiosis bias. *PLoS One* 8:e58544. doi: 10.1371/journal.pone.0058544

Klerdorf, K., Prinz, M., Geissmann, F., and Gomez Perdiguero, E. (2015). Development and function of tissue-resident macrophages in mice. *Semin. Immunol.* 27, 369–378. doi: 10.1016/j.smim.2016.03.017

Kim, Y.-K., Jung, H.-G., Myint, A.-M., Kim, H., and Park, S.-H. (2007). Imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 104, 91–95. doi: 10.1016/j.jad.2007.02.018

Kim, T. D., Lee, S., and Yoon, S. (2020). S. Inflammation in post-traumatic stress disorder (PTSD): a review of potential correlates of PTSD with a neurological perspective. *Antioxidants* 9:107. doi: 10.3390/antiox9020107

Kingwell, K. (2012). Neurodegenerative disease: microglia in early disease stages. *Nat. Rev. Neurol.* 8:475. doi: 10.1038/nrneurol.2012.172

Knable, M. B., Barci, B. M., Webster, M. J., Meador-Woodruff, J., Torrey, E. F., and Stanley Neuropathology Consortium. (2004). Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: postmortem findings from the Stanley Neuropathology Consortium. *Mol. Psychiatry* 9, 609–620. doi: 10.1038/sj.mp.4001471

Konopaske, G. T., Lange, N., Coyle, J. T., and Benes, F. M. (2014). Prefrontal cortical dendritic spine pathology in schizophrenia and bipolar disorder. *JAMA Psychiatry* 71, 1323–1331. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2014.15821

Krishnamurthy, P., and Wadhwani, A. (2012). Antioxidant enzymes and human health. Antioxidant enzyme. *InTech* doi: 10.5772/48109. [Epub ahead of print].

Kühlbrandt, W. (2015). Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. *BMC Biol.* 13:89. doi: 10.1186/s12915-015-x

Kunz, M., Gama, C. S., Andreazza, A. C., Salvador, M., Ceresér, K. M., Gomes, F. A., et al. (2008). Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 32, 1677–1681. doi: 10.1016/j.pnpbp.2008.07.001

Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr. J.* 15:71. doi: 10.1186/s12937-016-0186-5

Labrie, V., Pai, S., and Petronis, A. (2012). Epigenetics of major psychosis: progress, problems and perspectives. *Trends Genet.* 28, 427–435. doi: 10.1016/j.tig.2012.04.002

Lacroix, A. (2019). *Glucocorticoid Effects on the Nervous System and Behavior.* Available online at: https://www.uptodate.com/contents/glucocorticoid-effects-on-the-nervous-system-and-behavior.

Lang, U. E., Hellweg, R., Seifert, F., Schubert, F., and Gallinat, J. (2007). Correlation between serum brain-derived neurotrophic factor level and an *in vivo* marker of cortical integrity. *Biol. Psychiatry* 62, 530–535. doi: 10.1016/j.biopsych.2007.01.002

Lazzarino, G., Amorini, A. M., Signoretti, S., Musumeci, G., Lazzarino, G., Caruso, G., et al. (2019). Pyruvate dehydrogenase and tricarboxylic acid cycle enzymes are sensitive targets of traumatic brain injury induced metabolic derangement. *Int. J. Mol. Sci.* 20:5774. doi: 10.3390/ijms20225774

Lee, B. D., Walss-Bass, C., Thompson, P. M., Dassori, A., Montero, P. A., Medina, R., et al. (2007). Malic enzyme 2 and susceptibility to psychosis and mania. *Psychiatry Res.* 150, 1–11. doi: 10.1016/j.psychres.2006.06.001

Lee, S., Zhang, H., and Webb, D. (2015). Dendritic spine morphology and dynamics in health anddisease. *Cell Health Cytoskeleton* 7, 121–131. doi: 10.2147/CHC.S82214

Lin, P.-Y. (2009). State-dependent decrease in levels of brain-derived neurotrophic factor in bipolar disorder: a meta-analytic study. *Neurosci. Lett.* 466, 139–143. doi: 10.1016/j.neulet.2009.09.044

Lin, T.-K., Cheng, C.-H., Chen, S.-D., Liou, C.-W., Huang, C.-R., and Chuang, Y.-C. (2012). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress promote apoptotic cell death in the striatum *via* cytochrome c/caspase-3 signaling cascade following chronic rotenone intoxication in rats. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 8722–8739. doi: 10.3390/ijms13078722

Liston, C., Cichon, J. M., Jeanneteau, F., Jia, Z., Chao, M. V., and Gan, W. B. (2013). Circadian glucocorticoid oscillations promote learning-dependent synapse formation and maintenance. *Nat. Neurosci.* 16, 698–705. doi: 10.1038/nn.3387

Liu, C.-Y., Wang, X., Liu, C., and Zhang, H.-L. (2019). Pharmacological targeting of microglial activation: new therapeutic approach. *Front. Cell. Neurosci.* 13:514. doi: 10.3389/fncel.2019.00514

Luo, Y., He, H., Zhang, M., Huang, X., and Fan, H. (2016). Altered serum levels of TNF-α, IL-6 and IL-18 in manic, depressive, mixed state of bipolar disorder patients. *Psychiatry Res.* 244, 19–23. doi: 10.1016/j.psychres.2016.07.027

Machado-Vieira, R., Andreazza, A. C., Viale, C. I., Zanatto, V., Cereser, V. Jr., da Silva Vargas, R., et al. (2007). Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during an initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci. Lett.* 421, 33–36. doi: 10.1016/j.neulet.2007.05.016

Machado-Vieira, R., Manji, H. K., and Zarate, C. A. Jr. (2009). The role of lithium in the treatment of bipolar disorder: convergent evidence for neurotrophic effects as a unifying hypothesis. *Bipolar Disord.* 11, 92–109. doi: 10.1111/j.1399-5618.2009.00714.x

Magalhães, P. V. S., Fries, G. R., and Kapczinski, F. (2012). Peripheral markers and the pathophysiology of bipolar disorder. *Rev. Psiquiatr. Clín.* 39, 60–67. doi: 10.1590/S0101-60832012000200004

Mandavilli, B. S., Aggeler, R. J., and Chambers, K. M. (2018). Tools to measure cell health and cytotoxicity using high content imaging and analysis. *Methods Mol. Biol.* 1683, 33–46. doi: 10.1007/978-1-4939-7357-6_3

Mansur, R. B., Santos, C. M., Rizzo, L. B., Cunha, G. R., Asevedo, E., Noto, M. N., et al. (2016). Inter-relation between brain-derived neurotrophic factor and antioxidant enzymes in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 18, 433–439. doi: 10.1111/bdi.12418

Martinowich, K., Hattori, D., Wu, H., Fouse, S., He, F., Hu, Y., et al. (2003). DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation. *Science* 302, 890–893. doi: 10.1126/science.1090842

Martinowich, K., Schloesser, R. J., and Manji, H. K. (2009). Bipolar disorder: from genes to behavior pathways. *J. Clin. Invest.* 119, 726–736. doi: 10.1172/JCI37703

McEwen, B. S. (2000). Allostasis and allostatic load implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology* 22, 108–124. doi: 10.1016/S0893-133X(99)00129-3

McEwen, B. S. (2017). Neurobiological and systemic effects of chronic stress. *Chronic Stress* 1:2470547017692328. doi: 10.1177/2470547017692328

Mechawar, N., and Savitz, J. (2016). Neuropathology of mood disorders: do we see the stigmata of inflammation? *Transl. Psychiatry* 6:e946. doi: 10.1038/tp.2016.212

Merkulov, V. M., Merkulova, T. I., and Bondar, N. P. (2017). Mechanisms of brain glucocorticoid resistance in stress-induced psychopathologies. *Biochemistry* 82, 351–365. doi: 10.1134/S0006297917030142

Milan-Mattos, J. C., Anibal, F. F., Perseguini, N. M., Minatel, V., Rehder-Santos, P., Castro, C. A., et al. (2019). Effects of natural aging and gender on pro-inflammatory markers. *Br. J. Med. Biol. Res.* 52:e8392. doi: 10.1590/1414-431X20198392

Mildner, A., Schmidt, H., Nitsche, M., Merkler, D., Hanisch, U. K., Mack, M., et al. (2007). Microglia in the adult brain arise from Ly-6C(hi)CCR2(+) monocytes only under defined host conditions. *Nat. Neurosci.* 10, 1544–1553. doi: 10.1038/nn2015

Milenkovic, D., Blaza, J. N., Larsson, N. G., and Hirst, J. (2017). The enigma of the respiratory chain supercomplex. *Cell Metab.* 25, 765–776. doi: 10.1016/j.cmet.2017.03.009

Miller, A. H., Maletic, V., and Raison, C. L. (2009). Inflammation and its Discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol. Psychiatry* 65, 739–752. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.11.029

Miller, A. H., and Raison, C. L. (2016). The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 22–34. doi: 10.1038/nri.2015.5

Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., and Malik, A. B. (2013). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid. Redox Signal.* 20, 1126–1167. doi: 10.1089/ars.2012.5149

Mizisin, A. P., and Weerasuriya, A. (2011). Homeostatic regulation of the endoneurial microenvironment during development, aging and in response to trauma, disease and toxic insult. *Acta Neuropathol.* 121, 291–312. doi: 10.1007/s00401-010-0783-x

Mocchetti, I., and Brown, M. (2008). Targeting neurotrophin receptors in the central nervous system. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 7, 71–82. doi: 10.2174/187152708783885138

Modabbernia, A., Taslimi, S., Brietzke, E., and Ashrafi, M. (2013). Cytokine alterations in bipolar disorder: a meta-analysis of 30 studies. *Biol. Psychiatry* 74, 15–25. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.01.007

Momtazmanesh, S., Zare-Shahabadi, A., and Rezaei, N. (2019). Cytokine alterations in schizophrenia: an updated review. *Front. Psychiatry* 10:892. doi: 10.3389/fpsyt.2019.00892

Moreira, A. L. R., Van Meter, A., Genzlinger, J., and Youngstrom, E. A. (2017). Review and meta-analysis of epidemiologic studies of adult bipolar disorder. *J. Clin. Psychiatry* 78, 1259–1269. doi: 10.4088/JCP.16r11165

Muneer, A. (2016). Bipolar disorder: role of inflammation and the development of disease biomarkers. *Psychiatry Invest.* 13, 18–33. doi: 10.4306/pi.2016.13.1.18

Nakagawa, Y., and Chiba, K. (2014). Role of microglial m1/m2 polarization in relapse and remission of psychiatric disorders and diseases. *Pharmaceuticals* 7, 1028–1048. doi: 10.3390/ph7121028

Newton, D. F., Naiberg, M. R., Andreazza, A. C., Scola, G., Dickstein, D. P., and Goldstein, B. I. (2017). Association of lipid peroxidation and brain-derived neurotrophic factor with executive function in adolescent bipolar disorder. *Psychopharmacology* 234, 647–656. doi: 10.1007/s00213-016-4500-x

Nguyen, K. D., Qiu, Y., Cui, X., Goh, Y. P. S., Mwangi, J., David, T., et al. (2011). Alternatively activated macrophages produce catecholamines to sustain adaptive thermogenesis. *Nature* 480, 104–108. doi: 10.1038/nature10653

Norden, D. M., and Godbout, J. P. (2013). Review: microglia of the aged brain: primed to be activated and resistant to regulation. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 39, 19–34. doi: 10.1111/j.1365-2990.2012.01306.x

Ohgidani, M., Kato, T. A., Haraguchi, Y., Matsushima, T., Mizoguchi, Y., Murakawa-Hirachi, T., et al. (2017). Microglial CD206 gene has potential as a state marker of bipolar disorder. *Front. Immunol.* 7:676. doi: 10.3389/fimmu.2016.00676

Olmez, I., and Ozyurt, H. (2012). Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease. *Neurochem. Int.* 60, 208–212. doi: 10.1016/j.neuint.2011.11.009

Olsen, D., Kaas, M., Schwartz, O., Nykjaer, A., and Glerup, S. (2013). Loss of BDNF or its receptors in three mouse models has unpredictable consequences for anxiety and fear acquisition. *Learn. Mem.* 20, 499–504. doi: 10.1101/lm.032045.113

Panaccione, I., Spalletta, G., and Sani, G. (2015). Neuroinflammation and excitatory symptoms in bipolar disorder. *Neuroimmunol. Neuroinflammation* 2, 215–227. doi: 10.4103/2347-8659.167304

Pandya, C. D., Howell, K. R., and Pillai, A. (2013). Antioxidants as potential therapeutics for neuropsychiatric disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 46, 214–223. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.10.017

Paolicelli, R. C., Bolasco, G., Pagani, F., Maggi, L., Scianni, M., Panzanelli, P., et al. (2011). Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. *Science* 333, 1456–1458. doi: 10.1126/science.1202529

Park, H., and Poo, M.-M. (2013). Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 7–23. doi: 10.1038/nrn3379

Parkhurst, C. N., Yang, G., Ninan, I., Savas, J. N., Yates, J. R. III., Lafaille, J. J., et al. (2013). Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell* 155, 1596–1609. doi: 10.1016/j.cell.2013.11.030

Passos, I. C., Mwangi, B., Vieta, E., Berk, M., and Kapczinski, F. (2016). Areas of controversy in neuroprogression in bipolar disorder. *Acta Psychiatr. Scand.* 134, 91–103. doi: 10.1111/acps.12581

Pawluk, H., Woźniak, A., Grześk, G., Kołodziejska, R., Kozakiewicz, M., Kopkowska, E., et al. (2020). The role of selected pro-inflammatory cytokines in pathogenesis of ischemic stroke. *Clin. Interv. Aging* 15, 469–484doi: 10.2147/CIA.S233909

Pereira, L. C., Souza, A. O., Pazin, M., and Dorta, D. J. (2012). Mitocôndria como alvo para avaliação de toxicidade de xenobiótico. *Rev. Brasil. Toxicol.* 25, 1–14. Available online at: https://docplayer.com.br/48046346-Mitocondria-como-alvo-para-avaliacao-de-toxicidade-de-xenobiotico.html.

Perier, C., Bové, J., and Vila, M. (2012). Mitochondria and programmed cell death in Parkinson's disease: apoptosis and beyond. *Antioxid. Redox Signal.* 16, 883–895. doi: 10.1089/ars.2011.4074

Perry, V. H., Nicoll, J. A., and Holmes, C. (2010). Microglia in neurodegenerative disease. *Nat. Rev. Neurol.* 6, 193–201. doi: 10.1038/nrneurol.2010.17

Pfaffenseller, B., Fries, G. R., Wollenhaupt-Aguiar, B., Colpo, G. D., Stertz, L., Panizzutti, B., et al. (2013). Neurotrophins, inflammation and oxidative stress as illness activity biomarkers in bipolar disorder. *Expert Rev. Neurother.* 13, 827–842. doi: 10.1586/14737175.2013.811981

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* 30, 11–26. doi: 10.1007/s12291-014-0446-0

Prabakaran, S., Swatton, J., Ryan, M., Huffaker, S. J., Huang, J. T.-J., Griffin, J. L., et al. (2004). Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Mol. Psychiatry* 9, 684–697. doi: 10.1038/sj.mp.4001511

Prinz, M., and Priller, J. (2014). Microglia and brain macrophages in the molecular age: from origin to neuropsychiatric disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 15, 300–312. doi: 10.1038/nrn3722

Prinz, M., and Priller, J. (2017). The role of peripheral immune cells in the CNS in steady state and disease. *Nat. Neurosci.* 20, 136–144. doi: 10.1038/nn.4475

Prinz, M., Priller, J., Sisodia, S. S., and Ransohoff, R. M. (2011). Heterogeneity of CNS myeloid cells and their roles in neurodegeneration. *Nat. Neurosci.* 14, 1227–1235. doi: 10.1038/nn.2923

Rabasa, C., Gagliano, H., Pastor-Churana, J., Puentes, S., Belda, X., Nadal, R., et al. (2015). Adaptation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis to daily repeated stress does not follow the rules of habituation: a new perspective. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 56, 35–49. doi: 10.1016/j.neubiorev.2015.06.013

Raffa, M., Barhoumi, S., Atig, F., Fendri, C., Kerkeni, A., and Mechri, A. (2012). Reduced antioxidant defense systems in schizophrenia and bipolar I disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 39, 371–375. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.07.013

Ransohoff, R. M., and Cardona, A. E. (2010). The myeloid cells of the central nervous system parenchyma. *Nature* 468, 253–262. doi: 10.1038/nature09615

Rao, J. S., Harry, G. J., Rapoport, S. I., and Kim, H. W. (2010). Increased excitotoxicity and neuroinflammatory markers in post-mortem frontal cortex from bipolar disorder patients. *Mol. Psychiatry* 15, 384–392. doi: 10.1038/mp.2009.47

Réus, G. Z., Fries, G. R., Stertz, L., Badawy, M., Passos, I. C., Barichello, T., et al. (2015). The role of inflammation and microglial activation in the pathophysiology of psychiatric disorders. *Neuroscience* 300, 141–154. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.018

Reynolds, A., Laurie, C., Mosley, R. L., and Gendelman, H. E. (2007). Oxidative stress and the pathogenesis of neurodegenerative disorders. *Int. Rev. Neurobiol.* 82, 297–325. doi: 10.1016/S0074-7742(07)82016-2

Rios, J. L. (2014). *Geart Rate Variability and Allostasis in Individuals with Depression and Anxiety Symptoms*. Northridge: California State University.

Roda, A., Chendo, I., and Kunz, M. (2015). Biomarcadores e estadiamento do transtorno bipolar: uma revisão sistemática. *Trends Psychiatry Psychother.* 37, 03–11. doi: 10.1590/2237-6089-2014-0002

Rosa, A. R., Frey, B. N., Andreazza, A. C., Ceresér, K. M., Cunha, A. B. M., Quevedo, J., et al. (2006). Increased serum glial cell line-derived neurotrophic factor immunocontent during manic and depressive episodes in individuals with bipolar disorder. *Neurosci. Lett.* 407, 146–150. doi: 10.1016/j.neulet.2006.08.026

Rowland, T., Perry, B. I., Upthegrove, R., Barnes, N., Chatterjee, J., Gallacher, D., et al. (2018). Neurotrophins, cytokines, oxidative stress mediators and mood state in bipolar disorder: systematic review and meta-analyses. *Br. J. Psychiatry* 213, 514–525. doi: 10.1192/bjp.2018.144

Salagre, E., Dodd, S., Aedo, A., Rosa, A., Amoretti, S., Pinzon, J., et al. (2018). Toward precision psychiatry in bipolar disorder: staging 2.0. *Front. Psychiatry* 9:641. doi: 10.3389/fpsyt.2018.00641

Salim, S. (2017). Estresse oxidativo e o sistema nervoso central. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 360, 201–205. doi: 10.1124/jpet.116.237503

Salim, S., Asghar, M., Taneja, M., Hovatta, I., Wu, Y.-L., Saha, K., et al. (2011). Novel role of RGS2 in the regulation of antioxidant homeostasis in neuronal cells. *FEBS Lett.* 6, 1375–1381. doi: 10.1016/j.febslet.2011.04.023

Salminen, A., Kauppinen, A., Hiltunen, M., and Kaarniranta, K. (2014). Krebs cycle intermediates regulate DNA and histone methylation: epigenetic impact on the aging process. *Ageing Res. Rev.* 16, 45–65. doi: 10.1016/j.arr.2014.05.004

Sasi, M., Vignoli, B., Canossa, M., and Blum, R. (2017). Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. *Pflugers Arch.* 469, 593–610. doi: 10.1007/s00424-017-1964-4

Sassi, R. B., Nicoletti, M., and Brambilla, P. (2002). Increased gray matter volume in lithium-treated bipolar disorder patients. *Neurosci. Lett.* 329, 243–245. doi: 10.1016/s0304-3940(02)00615-8

Savas, H. A., Gergerlioglu, H. S., Armutcu, F., Herken, H., Yilmaz, H. R., Kocoglu, E., et al. (2006). Elevated serum nitric oxide and superoxide dismutase in euthymic bipolar patients: impact of past episodes. *World J. Biol. Psychiatry* 7, 51–55. doi: 10.1080/15622970510029993

Sayed, B. A., Christy, A. L., Walker, M. E., and Brown, M. (2010). Do meningeal mast cells affect early T cell central nervous system infiltration and blood-brain barrier integrity through TNF: a role for neutrophil recruitment? *J. Immunol.* 184, 6891–6900. doi: 10.4049/jimmunol.1000126

Scaini, G., Rezin, G. T., Carvalho, A. F., Streck, E. L., Berk, M., and Quevedo, J. (2016). Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: evidence, pathophysiology and translational implications. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 68, 694–713. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.06.040

Scaini, G., Valvassovi, S. S., Diaz, A. P., Lima, C. N., Benevenuto, D., Fries, G. R., et al. (2020). Neurobiology of bipolar disorders: a review of genetic components, signaling pathways, biochemical changes, and neuroimaging findings. *Braz. J. Psychiatry* 42, 536–551. doi: 10.1590/1516-4446-2019-0732

Schloesser, R. J., Huang, J., Klein, P. S., and Manji, H. K. (2008). Cellular plasticity cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 33, 110–133. doi: 10.1038/sj.npp.1301575

Schmidt, H. D., Shelton, R. C., and Duman, R. S. (2011). Functional biomarkers of depression: diagnosis, treatment, and pathophysiology. *Neuropsychopharmacology* 36, 2375–2394. doi: 10.1038/npp.2011.151

Scola, G., and Andreazza, A. C. (2015). The role of neurotrophins in bipolar disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 56, 122–128. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.08.013

Scola, G., McNamara, R. K., Croarkin, P. E., Leffler, J. M., Cullen, K. R., Geske, J. R., et al. (2016). Lipid peroxidation biomarkers in adolescents with or at high-risk for bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 192, 176–183. doi: 10.1016/j.jad.2015.12.020

Scussel, F., Salvador, L. C., Brandão, L. S., and Feier, G. (2016). Clinical profile of patients with bipolar disorder treated at a specialized clinic in southern Santa Catarina. *Arq. Catarin. Med.* 45, 03–10. Available online at: http://www.acm.org.br/acm/seer/index.php/arquivos/article/view/133.

Sen, S., Duman, R., and Sanacora, G. (2008). Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol. Psychiatry* 64, 527–532. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.05.005

Sheng, Z.-H., and Cai, Q. (2012). Mitochondrial transport in neurons: impact on synaptic homeostasis and neurodegeneration. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 77–93. doi: 10.1038/nrn3156

Shi, L., and Tu, B. P. (2015). Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences. *Curr. Opin. Cell Biol.* 33, 125–131. doi: 10.1016/j.ceb.2015.02.003

Sigitova, E., Fišar, Z., Hroudová, J., Cikánková, T., and Raboch, J. (2017). Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 71, 77–103. doi: 10.1111/pcn.12476

Singh, V., Singh, S. P., and Chan, K. (2010). Review and meta-analysis of usage of ginkgo as an adjunct therapy in chronic schizophrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 13, 257–271. doi: 10.1017/S1461145709990654

Siwek, M., Sowa-Kucma, M., Styczen, K., Misztak, P., Szewczyk, B., Topor-Madry, R., et al. (2016). Thiobarbituric acid-reactive substances: markers of an acute episode and a late stage of bipolar disorder. *Neuropsychobiology* 73, 116–122. doi: 10.1159/000444491

Skaper, S. D., Facci, L., and Giusti, P. (2013). Glia and mast cells as targets for palmitoylethanolamide, an anti-inflammatory and neuroprotective lipid mediator. *Mol. Neurobiol.* 48, 340–352. doi: 10.1007/s12035-013-8487-6

Sneeboer, M. A. M., Snijders, G. J. L. J., Berdowski, W. M., Fernández-Andreu, A., Psychiatric Donor Program of the Netherlands Brain Bank (NBB-Psy), van Mierlo, H.C., et al. (2019). Microglia in post-mortem brain tissue of patients with bipolar disorder are not immune activated. *Transl. Psychiatry* 9:153. doi: 10.1038/s41398-019-0490-x

Sochocka, M., Diniz, B. S., and Leszek, J. (2017). Inflammatory response in the CNS: friend or foe? *Mol. Neurobiol.* 54, 8071–8089. doi: 10.1007/s12035-016-0297-1

Squarzoni, P., Oller, G., Hoeffel, G., Pont-Lezica, L., Rostaing, L., Low, D., et al. (2014). Microglia modulate wiring of the embryonic forebrain. *Cell Rep.* 8, 1271–1279. doi: 10.1016/j.celrep.2014.07.042

Steckert, A. V., Valvassovi, S. S., Moretti, M., Dal-Pizzol, F., and Quevedo, J. (2010). Role of oxidative stress in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neurochem. Res.* 35, 1295–1301. doi: 10.1007/s11064-010-0195-2

Sun, T., Qiao, H., Pan, P.-Y., Chen, Y., and Sheng, Z. H. (2013). Motile axonal mitochondria contribute to the variability of presynaptic strength. *Cell Rep.* 15, 413–419. doi: 10.1016/j.celrep.2013.06.040

Sutton, M. A., and Schuman, E. M. (2006). Dendritic protein synthesis, synaptic plasticity and memory. *Cell* 127, 49–58. doi: 10.1016/j.cell.2006.09.014

Szepesi, Z., Manouchehrian, O., Bachiller, S., and Deierborg, T. (2018). Bidirectional microglia-neuron communication in health and disease. *Front. Cell. Neurosci* 12:323. doi: 10.3389/fncel.2018.00323

Tinahones, F. J., Murri-Pierri, M., Garrido-Sanchez, L., Garcia-Almeida, J. M., Garcia-Serrano, S., Garcia-Arnés, J., et al. (2009). Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obesity* 17, 240–246. doi: 10.1038/oby.2008.536

Tohidpour, A., Morgun, A. V., Boitsova, E. B., Malinovskaya, N. A., Martynova, G. P., Khilazheva, E. D., et al. (2017). Neuroinflammation and infection: molecular mechanisms associated with dysfunction of neurovascular unit. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7:276. doi: 10.3389/fcimb.2017.00276

Tramontina, J., Andreazza, A. C., Kauer'Santana, M., Stertz, L., Got, J., Chiarani, F., et al. (2009). Brain-derived neurotrophic factor serum levels before and after treatment for acute mania. *Neurosci. Lett.* 452, 111–113. doi: 10.1016/j.neulet.2009.01.028

Tsai, M. C., and Huang, T. L. (2015). Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) is a state biomarker of oxidative stress in bipolar patients in a manic phase. *J. Affect. Disord.* 173, 22–26. doi: 10.1016/j.jad.2014.10.045

Tunçel, O. K., Sarisoy, G., Bilgici, B., Pazvantoglu, O., Çetin, E., Ünverdi, E., et al. (2015). Oxidative stress in bipolar and schizophrenia patients. *Psychiatry Res.* 228, 688–694. doi: 10.1016/j.psychres.2015.04.046

Ulrich-Lai, Y. M., and Herman, J. P. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 397–409. doi: 10.1038/nrn2647

Uyanik, V., Tuglu, C., Gorgulu, Y., Kunduraclar, H., and Uyanik, M. S. (2015). Assessment of cytokine levels and hs-CRP in bipolar I disorder before and after treatment. *Psychiatry Res.* 228, 386–392. doi: 10.1016/j.psychres.2015.05.078

Vakifahmetoglu-Norberg, H., Ouchida, A. T., and Norberg, E. (2017). The role of mitochondria in metabolism and cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 482, 426–431. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.11.088

Valvassori, S. S., Arent, C. O., Steckert, A. V., Varela, R. B., Jornada, L. K., Tonin, P. T., et al. (2015). Intracerebral administration of BDNF protects rat brain against oxidative stress induced by ouabain in an animal model of mania. *Mol. Neurobiol.* 52, 353–362. doi: 10.1007/s12035-014-8873-8

Valvassori, S. S., Bavaresco, D. V., Budni, J., Bobsin, T. S., Gonçalves, C. L., de Freitas, K. V., et al. (2014). Effects of tamoxifen on tricarboxylic acid cycle enzymes in the brain of rats submitted to an animal model of mania induced by amphetamine. *Psychiatry Res.* 215, 483–487. doi: 10.1016/j.psychres.2013.11.016

Valvassori, S., Bavaresco, D. V., Feier, G., Cechinel-Recco, K., Steckert, A. V., Varela, R. B., et al. (2018). Increased oxidative stress in the mitochondria isolated from lymphocytes of bipolar disorder patients during depressive episodes. *Psychiatry Res.* 264, 192–201. doi: 10.1016/j.psychres.2018.03.089

Valvassori, S. S., Calixto, K. V., Budni, J., Resende, W. R., Varela, R. B., de Freitas, K. V., et al. (2013). Sodium butyrate reverses the inhibition of Krebs cycle enzymes induced by amphetamine in the rat brain. *J. Neural Transm.* 120, 1737–1742. doi: 10.1007/s00702-013-1056-3

Vasconcelos-Moreno, M. P., Fries, G. R., Gubert, C., Dos Santos, B., Fijtman, A., Sartori, J., et al. (2017). Telomere length, oxidative stress, inflammation and BDNF levels in siblings of patients with bipolar disorder: implications for accelerated cellular aging. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 20, 445–454. doi: 10.1093/ijnp/pyx001

Vidyasagar, A. (2015). What are mitochondria? *Live Science*. Available online at: http://www.livescience.com/50679-mitochondria.htm.

Vieta, E., Popovic, D., Rosa, A. R., Solé, B., Grande, I., Frey, B. N., et al. (2013). The clinical implications of cognitive impairment and allostatic load in bipolar disorder. *Eur. Psychiatry* 28, 21–29. doi: 10.1016/j.eurpsy.2011.11.007

Vinberg, M. (2020). Searching for the needles in a haystack; is it needless? The search for peripheral biomarkers in psychiatry. *Front. Psychiatry* 11:689. doi: 10.3389/fpsyt.2020.00689

Voets, A. M., Huigsloot, M., Lindsey, P. J., Leenders, A. M., Koopman, W. J. H., Willems, P. H. G. M., et al. (2012). Transcriptional changes in OXPHOS complex I deficiency are related to anti-oxidant pathways and could explain the disturbed calcium homeostasis. *Biochim. Biophys. Acta* 1822, 1161–1168. doi: 10.1016/j.bbadis.2011.10.009

von Bernhardi, R., Eugenin-von Bernhardi, L., and Eugenin, J. (2015). Microglial cell dysregulation in brain aging and neurodegeneration. *Front. Aging Neurosci.* 7:124.doi: 10.3389/fnagi.2015.00124

Vostrikov, V. M., Uranova, N. A., and Orlovskaya, D. D. (2007). Deficit of perineuronal oligodendrocytes in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders. *Schizophr. Res.* 94, 273–280. doi: 10.1016/j.schres.2007.04.014

Walker, J. E. (2013). The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown. *Biochem. Soc. Trans.* 41, 1–16. doi: 10.1042/BST20110773

Walz, J. C., Magalhães, P. V., Giglio, L. M., Cunha, A. B., Stertz, L., Fries, G. R., et al. (2009). Increased serum neurotrophin-4/5 levels in bipolar disorder. *J. Psychiatr. Res.* 43, 721–723. doi: 10.1016/j.jpsychires.2008.10.005

Wang, D., Li, H., Du, X., Zhou, J., Yuan, L., Ren, H., et al. (2020). Circulating brain-derived neurotrophic factor, antioxidant enzymes activities and mitochondrial DNA in bipolar disorder: an exploratory report. *Front. Psychiatry* 11:514658. doi: 10.3389/fpsyt.2020.514658

West, A. P., Shadel, G. S., and Ghosh, S. (2011). Mitochondria in innate immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 389–402. doi: 10.1038/nri2975

Yang, Y., Jorstad, N. L., Shiao, C., Cherme, M. K., Khademi, S. B., Montine, K. S., et al. (2013). Perivascular, but not parenchymal, cerebral engraftment of donor cells after non-myeloablative bone marrow transplantation. *Exp. Mol. Pathol.* 95, 7–17. doi: 10.1016/j.yexmp.2013.03.010

Yang, J., Siao, C. J., Nagappan, G., Marinic, T., Jing, D., McGrath, K., et al. (2009). Neuronal release of proBDNF. *Nat. Neurosci.* 12, 113–115. doi: 10.1038/nn.2244

Yaribeygi, H., Panahi, Y., Sahraei, H., Johnston, T. P., and Sahebkar, A. (2017). The impact of stress on body function: a review. *EXCLI J.* 16, 1057–1072. doi: 10.17179/excli2017-480

Yoshimi, N., Futamura, T., Kakumoto, K., Salehi, A. M., Sellgren, C. M., Holmén-Larsson, J., et al. (2016). Blood metabolomics analysis identifies abnormalities in the citric acid cycle, urea cycle and amino acid metabolism in bipolar disorder. *BBA Clin.* 5, 151–158. doi: 10.1016/j.bbacli.2016.03.008

Youle, R. J., and Strasser, A. (2008). The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9, 47–59.doi: 10.1038/nrm2308

Yu, W., and Greenberg, M. L. (2016). Inositol depletion, GSK3 inhibition and bipolar disorder. *Future Neurol.* 11, 135–148. doi: 10.2217/fnl-2016-0003

Yutaka, N., and Kenji, C. (2014). Review role of microglial M1/M2 polarization in relapse and remission of psychiatric disorders and diseases. *Pharmaceuticals* 7, 1028–1048. doi: 10.3390/ph7121028

Zhang, X. Y., Chen, D.-C., Tan, Y.-L., Tan, S.-P., Wang, Z.-R., Yang, F.-D., et al. (2015). The interplay between BDNF and oxidative stress in chronic schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 51, 201–208. doi: 10.1016/j.psyneuen.2014.09.029

Zhang, C. L., Ho, P. L., Kinter, D. B., Sun, D., and Chiu, S. Y. (2010). Activity-dependent regulation of mitochondrial motility by calcium and Na/K-ATPase at nodes of Ranvier of myelinated nerves. *J. Neurosci.* 30, 3555–3566. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4551-09.2010

Zhao, R. Z., Jiang, S., Zhang, L., and Yu, Z. B. (2019). Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int. J. Mol. Med.* 44, 3–15. doi: 10.3892/ijmm.2019.4188

Zhu, X. H., Lee, B. Y., and Chen, W. (2018). Functional energetic responses and individual variance of the human brain revealed by quantitative imaging of adenosine triphosphate production rates. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 38, 959–972. doi: 10.1177/0271678X18769039

Zhu, X.-H., Qiao, H., Du, F., Xiong, Q., Liu, X., Zhang, X., et al. (2012). Quantitative imaging of energy expenditure in human brain *NeuroImage* 60, 2107–2117. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.02.013

Zuccoli, G. S., Saia-Cereda, V. M., Nascimento, J. M., and Martins-de-Souza, D. (2017). The energy metabolism dysfunction in psychiatric disorders postmortem brains: focus on proteomic evidence. *Front. Neurosci.* 11:493. doi: 10.3389/fnins.2017.00493

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Cyrino, Delwing-de Lima, Ullmann and Maia. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

5.2. ARTIGO 2

Bioquímica Mitocondrial e Estresse Oxidativo no Transtorno Bipolar:

Novos Horizontes

Luiz Arthur Rangel Cyrino, Daniela Delwing-de Lima*, Oliver Matheus Ullmann;

Thayná Patachini Maia, Ana Carolina Sardo

Artigo publicado na revista *Revista Contexto & Saúde* em Jun. 2020.

(Qualis Interdisciplinar B1)

Revista Contexto & Saúde
Editora Unijuí
Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde

Contexto & Saúde
http://dx.doi.org/

Bioquímica Mitocondrial e Estresse Oxidativo no Transtorno Bipolar: Novos Horizontes

Luiz Arthur Rangel Cyrino[1], Daniela Delwing de Lima[2], Oliver Matheus Ullmann[1], Thayna Patachini Maia[1], Ana Carolina Sardo[1]

RESUMO

Este artigo é uma revisão do efeito do estresse oxidativo (EO) no Transtorno Bipolar (TB). Esta doença é caracterizada como sendo crônica, grave, com alta morbidade, mortalidade e altas taxas de suicídio. É uma doença progressiva, com episódios cada vez mais curtos e frequentes ao longo do tempo. Modificações ocorrem no encéfalo, como alterações na neuroplasticidade, neurotransmissão, falhas na apoptose, ativação no processo imunoinflamatório, com alterações na via de sinalização do cálcio e, mais recentemente, sobre o EO. Esses eventos envolvem uma reorganização patológica no encéfalo e, portanto, estão associados a alterações morfológicas, tais como redução do volume do córtex pré-frontal, do hipocampo e da amígdala aumentada. Essas alterações estruturais e bioquímicas são conhecidas como neuroprogressão, e apresentam diferenças entre o estágio inicial e o final do TB. Neurônios e células da glia têm uma das mais altas demandas de energia, quando estas alterações bioquímicas e anatômicas afetam essas células e, principalmente, organelas, como as mitocôndrias. A mitocôndria é uma organela especializada que gera trifosfato de adenosina (ATP) sendo considerada a principal fonte de espécies reativas produzidas principalmente pela cadeia de transporte de elétrons (CTE), levando, assim, ao EO. O papel do EO na fisiopatologia da TB tem sido investigado em vários estudos, relatando mudanças nos níveis das enzimas antioxidantes, na peroxidação lipídica e do óxido nítrico (NO). Os mecanismos fisiopatológicos do TB contribuem para uma melhor compreensão da atividade da doença e podem revelar possíveis soluções para o diagnóstico e prognóstico.

Palavras-chave: Radicais livres. Metabolismo energético. Mitocôndrias. Transtorno bipolar. Estresse oxidative. Sistema nervoso central.

MITOCHONDRIAL BIOCHEMISTRY AND OXIDATIVE STRESS IN BIPOLAR DISORDER: NEW HORIZONS

ABSTRACT

This article is a review of the effect of oxidative stress on Bipolar Disorder (BD). This disease is characterized as being chronic, severe with high morbidity, mortality, and high suicide rates. It is a progressive disease with episodes becoming successively shorter and frequent over time. Multiple alterations occur in the brain such as changes in neuroplasticity, neurotransmission, failures in apoptosis, activation in the immune-inflammatory process, with changes in the calcium signaling pathway; and more recently, on oxidative stress. These events involve a pathological reorganization in the brain and therefore are associated with morphological changes such as, a reduction in the volume of the prefrontal cortex, hippocampus, and an enlarged amygdala. These structural and biochemical changes are known as neuroprogression, with a difference between the initial and final stages of BD. Neurons and glial cells have a high energy demand, where biochemical and anatomic changes affect these cells and mainly organelles such as mitochondria. Mitochondria is a specialized organelle that generates adenosine triphosphate. It is considered the primary source of reactive oxygen species, produced through the electron transport chain, leading to oxidative stress. The role of oxidative stress in the pathophysiology of BD has been investigated in several studies, and consistently reported changes in antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and nitric oxide levels. Pathophysiological mechanisms of BD contributes to an improved understanding of disease activity and may reveal possible solutions for diagnosis and prognosis.

Keywords: Free radicals. Energy metabolism. Mitochondria. Bipolar disorder. Oxidative stress. Central nervous system.

RECEBIDO EM: 29/6/2019
MODIFICAÇÕES SOLICITADAS EM: 25/8/2019
ACEITO EM: 6/9/2019

[1] Universidade da Região de Joinville – Univille. Joinville/SC, Brasil.

[2] Autora correspondente. Universidade da Região de Joinville – Univille. Rua Paulo Malschitzki, 10 – Zona Industrial Norte. Joinville/SC, Brasil. CEP 89219-710. http://lattes.cnpq.br/5765728791389269. https://orcid.org/0000-0001-5335-5102. danidelwing@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O Transtorno Bipolar (TB) é uma doença crônica e grave que afeta aproximadamente 1,1% da população mundial e está associado a uma alta taxa de comorbidades clínicas. Sua fisiopatologia é complexa, multifatorial e não é totalmente compreendida, sendo influenciada, de forma consistente, por fatores genéticos e ambientais (CLEMENTE *et al.,* 2015). Caracteriza-se por múltiplas alterações no encéfalo, entre as quais a neuroplasticidade, a cronobiologia, falhas na apoptose, o desenvolvimento cerebral alterado, a neurotransmissão e o processo imune-inflamatório, além da via de sinalização do cálcio, e, mais recentemente, o EO, com fortes alterações na bioenergética celular (SIGITOVA *et al.,* 2017). A doença também inclui déficits cognitivos, resistência ao tratamento e alterações biológicas periféricas e em estruturas cerebrais, como atrofia cortical e dilatação dos ventrículos. Tais alterações tornam-se mais pronunciadas após múltiplos episódios de humor (mania ou depressão). Uma hipótese para explicar essas fortes mudanças do estado de humor a partir do dano cumulativo e patologias relacionadas ao TB, é conhecida como carga alostática (VIETA *et al.,* 2013). Essa teoria busca entender como as mudanças cumulativas associadas às doenças psiquiátricas refletem-se na progressão da doença (KAPCZINSKI *et al.,* 2008). Assim, a alostase é a capacidade de obter estabilidade por meio de alterações, o que permite ao organismo responder a várias situações mediante alterações fisiológicas. Se, no entanto, esses processos se tornarem extremos ou ineficientes, a responsividade do corpo diminui e os processos acumulam-se para que mais sistemas regulatórios sejam comprometidos (carga alostática), prejudicando a plasticidade neuronal e a neurotransmissão (MCEWEN, 2000). Esse conjunto de mudanças fisiológicas, que ocorre com o curso da doença, foi associado a outro conceito recentemente desenvolvido, chamado neuroprogressão (BERK *et al.,* 2011). Dessa forma, este termo é utilizado para explicar a progressão dos distúrbios e a consequente aceleração dos mecanismos de doença (GRANDE *et al.*, 2012; MCEWEN; GIANAROS, 2011). Neste contexto, com a progressão da doença, ocorre um aumento na frequência e gravidade dos episódios de mania e depressão ao longo dos anos, levando ao aumento no número de comorbidades médicas e psiquiátricas associadas, desequilíbrio entre fatores pró e anti-inflamatórios, redução das neurotrofinas e aumento do EO. Este processo intoxica o corpo, liberando compostos e produzindo um remodelamento patológico do encéfalo e pior funcionamento cognitivo e emocional, com diminuição da produtividade na vida pessoal e profissional e de recuperação clínica (GAMA *et al.,* 2013). Assim, o TB pode ser visto como uma doença inflamatória multissistêmica, sendo representado por alterações em biomarcadores séricos (SYLVIA *et al.,* 2015) que poderiam funcionar como indicadores de toxicidade celular nestes pacientes (ROWLAND *et al.,* 2018). A análise de um conjunto de biomarcadores (marcadores inflamatórios, EO e neurotrofinas) mostrou que pacientes com TB de início agudo têm uma taxa de toxicidade sistêmica significativamente maior do que controles saudáveis, mas menor do que pacientes com sepse (PFAFFENSELLER *et al.,* 2013). Desse modo, compreender os mecanismos fisiopatológicos sistêmicos que contribuem para a disfunção resultante de múltiplos episódios de humor do TB, e identificar as vias associadas aos mediadores alostáticos envolvidos na neuroproteção, EO e inflamação, podem ser importantes para melhorar nossa compreensão da atividade da doença. Os diferentes biomarcadores podem estar associados à atividade da doença e à neuroprogressão, indicando se a doença está ativa ou em remissão. Vale ressaltar que marcadores sistêmicos já foram implicados no TB como mediadores da alostase (JUSTER *et al.,* 2013). Entre os mediadores da alostase e da neuroprogressão, destacam-se os glicocorticoides. Estes hormônios promovem adaptação dinâmica do organismo principalmente por meio da regulação da disponibilidade de compostos energéticos, entre outros efeitos. Quando em excesso e de forma crônica, podem causar disfunções em compartimentos celulares essenciais, tais como as mitocôndrias, produzindo um aumento do EO e de marcadores pró-inflamatórios, assim como a diminuição de fatores neurotróficos; processos esses já evidenciados em pacientes bipolares. Esta exposição excessiva aos glicocorticoides, observada no TB, acaba produzindo alterações neuroanatômicas, cognitivas e funcionais, que são mais pronunciadas em pacientes crônicos com múltiplos episódios, mas são, geralmente, sutis naqueles em estágios iniciais (BERK *et al.,* 2011). Apesar da psiquiatria necessitar de biomarcadores confiáveis e acessíveis, que facilitem o diagnóstico de forma precoce, estes ainda são insuficientes e caem em aproximadamente três categorias promissoras: 1 – genética, 2 – descobertas de imagens e 3 – níveis de metabólitos de moléculas. Neste último grupo encontram-se dosagens periféricas de diversas substâncias oriundas de células neuronais e gliais, tais como: 1 – as neurotrofinas: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF); Fator Neurotrófico Derivado da Glia (GDNF) e Fator de Crescimento Neuronal (NGF); 2 – as citocinas pró-inflamatórias: Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-1 (IL-1) e o Fator de Necrose Tumoral

Alfa (TNF– α), 3 – substâncias relacionadas ao EO: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa peroxidase (GSH-Px), 3-nitrotirosina (3-NT), e as Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBA-RS), e o último grupo: 4 – marcadores de disfunção do Ciclo de Krebs (CK), tais como citrato sintase, succinato desidrogenase e malato desidrogenase (GRANDE *et al.*, 2014; DE SOUSA *et al.*, 2015; SCAINI *et al.*, 2016).

Todas essas alterações bioquímicas estudadas impactam diretamente no encéfalo e, principalmente, nas células neuronais e em organelas como as mitocôndrias. Os neurônios são células de alta demanda energética. Um único neurônio cortical em repouso consome aproximadamente 4,7 milhões de moléculas de ATP por segundo para processar várias funções biológicas. A taxa de utilização de ATP é três vezes maior na substância cinzenta do que na substância branca no cérebro humano (ZHU; LEE; CHEN, 2018). Isso torna os neurônios responsáveis por 20% a 25% de todo o oxigênio e glicose consumidos pelo organismo (MANSUR; BRIETZKE, 2012). Em algumas porções dos neurônios ocorre uma demanda maior de fornecimento de energia, tais como os terminais pré-sinápticos e pós-sinápticos que regulam a neurotransmissão, os cones ativos de crescimento ou ramos axonais que regulam a plasticidade sináptica de curto prazo e, finalmente, os nódulos de Ranvier (ZHANG *et al.*, 2010). Para que estas mitocôndrias cheguem aos seus destinos, é necessário que ocorra o transporte mitocondrial neuronal. Este é bidirecional e de longo alcance, e depende dos microtúbulos, ocorrendo com uma velocidade média entre 0,32 e 0,91 μm/s (MACASKILL; KITTLER, 2010). A maior parte da biogênese das mitocôndrias neuronais acontece principalmente no soma do neurônio, quando são, então, distribuídas ao longo do axônio. Os mecanismos que regulam o transporte direcional das mitocôndrias são baseados em receptores na membrana. Eles capturam a informação do potencial de membrana mitocondrial (PMM) por meio da concentração de íons ou substâncias, como H^+, Ca^{2+}, ATP, difostato de adenosina (ADP), piruvato e dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NADH). Após a sinalização, as vias de transdução são ativadas de diferentes formas. Uma vez formadas e transportadas, as mitocôndrias podem ficar ancoradas em certas regiões ou apresentar mudança de direção. Assim, para manter a plasticidade neuronal e a confiabilidade da neurotransmissão, é necessário ter algumas das mitocôndrias ancoradas no terminal pré-sináptico. Estas mitocôndrias fornecem uma quantidade estável e contínua de ATP. Cerca, no entanto, de 20% a 30% das mitocôndrias axonais são móveis (CHEN; SHENG, 2013). Ao passarem por esses terminais de forma rápida e temporária, estas fornecem ATP, alterando, assim, a energia sináptica e influenciando as atividades das mesmas. Nessa direção, Sun *et al.* (2013) demonstraram pela primeira vez que este é um dos principais mecanismos subjacentes à variação pré-sináptica, quando a falta de mitocôndrias no terminal axonal prejudica a neurotransmissão pela diminuição de ATP e, consequentemente, da força de liberação das vesículas sinápticas, assim como a capacidade de bloquear e tamponar o cálcio ionizado da terminação axônica (IVANNIKOV; SUGIMORI; LLINÁS, 2013). Quanto à região pós-sináptica, pesquisas realizadas com métodos proteômicos, baseados em espectrometria de massa (FÖCKING *et al.*, 2016), observaram proteínas do citoesqueleto facilitando o movimento e a sinalização de alta densidade de receptores e complexos ativados que são críticos para a neurotransmissão normal e plasticidade sináptica. Desta forma, sabemos que a plasticidade sináptica é altamente dependente da função mitocondrial e do metabolismo energético. Quando as mitocôndrias alteram sua motilidade ou distribuição, ou quando sua integridade é prejudicada sob certas condições de estresse fisiopatológico, estas podem ser implicadas na patogênese de vários distúrbios neuropsiquiátricos importantes, como no TB e na esquizofrenia (CHU, 2019). Outras células fortemente envolvidas no processo da neuroprogressão são as células microgliais. Elas fazem contato íntimo com as sinapses, produzindo a degeneração sináptica, como nas doenças neurodegenerativas (HONG; DISSING-OLESEN; STEVENS, 2016). Estas células também estão relacionadas com a formação, proliferação e diferenciação de circuitos neurais, e ainda com a poda de conexões sinápticas em redes neurais. Quando esta comunicação é interrompida, pode-se observar efeitos devastadores na memória, sociabilidade, ansiedade e outros domínios comportamentais (WU *et al.*, 2014). Graças às recentes pesquisas desenvolvidas por Herz *et al.* (2017), sabemos hoje que células microgliais e macrófagos não parenquimais, que se apresentam nas meninges, espaços perivasculares e plexo coroide, representam duas populações mieloides ontogeneticamente distintas. As células da microglia aparecem precocemente durante o desenvolvimento embrionário derivado do saco vitelino (E) 8.5 (GOMEZ *et al.*, 2015), semeando o tecido cerebral antes do nascimento e permanecendo com uma população estável até o envelhecimento. Todos os outros macrófagos do sistema nervoso central (SNC) provavelmente originam-se de monócitos derivados da medula óssea. O volume de reposição da microglia é rápido, permitindo a renovação várias vezes ao longo da vida, a partir

de processos associados à proliferação e apoptose (ASKEW *et al.*, 2017). Apesar das origens distintas, microglia e macrófagos, que derivaram de monócitos, têm morfologias e funções fagocíticas semelhantes, contudo existe um subconjunto de funções exclusivas da microglia (GINHOUX; GUILLIAMS, 2016; PRINZ; PRILLER, 2017). Como são células imunes inatas do encéfalo, elas estão, de fato, procurando continuamente sinais que indiquem potenciais ameaças ao SNC, mesmo quando estas se encontram em seu estado de repouso (inativado) (HELLWIG; HEINRICH; BIBER, 2013). A presença de sinais químicos de infecções, traumas, substâncias endógenas e exógenas, ou a perda de sinais constitutivos anti-inflamatórios, podem ativar múltiplas vias de respostas. Estudos mostraram que a microglia e os macrófagos podem ser ativados em dois fenótipos significativos: classicamente ativados (M1) e alternativamente ativados (M2) (GEISSMANN *et al.*, 2010). Esses diferentes fenótipos reativos, constituídos por transcrição e perfis não transcricionais, são caracterizados por liberação de citocinas, quimiocinas e fagocitose. No estágio inicial da doença, os sintomas podem ser seguidos pela polarização microglial M1, induzida por hiperativação neuronal (NAKAGAWA; CHIBA, 2014; GINHOUX *et al.*, 2016). O fenótipo M1 pode produzir citocinas pró-inflamatórias e metabólitos oxidativos, como o TNF-α, IL-6, IL-1β e NO, fatores que podem causar danos adicionais e remover fibras nervosas danificadas pela fagocitose. A polarização microglial M2 anti-inflamatória, entretanto, é ativada em resposta a IL-4, IL-13 ou IL-10 (NGUYEN *et al.*, 2011), que regula negativamente a função microglial M1, restaurando o tecido da homeostase, consequentemente atenuando os sintomas, suprimindo a inflamação, reparando o tecido e promovendo a cicatrização de feridas (KAWABORI; YENARI, 2014). Se a polarização M2 é insuficiente, as funções microgliais M1 são mantidas e induzem disfunções da rede neural continuamente. A gravidade dos sintomas pode aumentar gradualmente de acordo com a frequência da polarização M1 (NAKAGAWA; CHIBA, 2014). Essas células poderiam manter mudanças sutis, como na atividade transcricional, o que afetaria sua sensibilidade a sinais anti-inflamatórios ou alteraria respostas a estímulos subsequentes, podendo até levar à morte de neurônios. É importante lembrar que a microglia ativada sempre esteve associada a efeitos neurotóxicos, e esse mecanismo está relacionado com a neuroprogressão, em que a ativação microglial é desregulada e a inflamação induzida pela microglia é intensa, ocorrendo efeitos diretos sobre os neurônios. Estes mecanismos são observados em todas as patologias no encéfalo, contribuindo para a progressão das doenças mentais, quando dano tecidual ou estresse celular produzem sinais de ativação microglial (KETTENMANN *et al.*, 2011). Indivíduos com TB nos distintos estágios da doença (precoce e tardia) e nas diferentes fases (depressiva, maníaca e eutímica), apresentam alterações de alguns destes mediadores no sangue periférico. Assim, a neuroprogressão, a partir do remodelamento da estrutura cerebral, associada a essas alterações químicas, tem importantes implicações clínicas, posto que estágios iniciais e tardios da doença parecem apresentar diferentes características biológicas e, assim, possivelmente requerem diferentes estratégias de tratamento (FERENSZTAJN; RYBAKOWSKI, 2012). Os mecanismos que levam à diminuição da resistência orgânica em situações de estresse nos episódios agudos no TB, provavelmente envolvem vias de sinalização celular e organelas, por exemplo as mitocôndrias e retículo endoplasmático, que afetariam as células neuronais e gliais. Evidências sugerem um papel importante da disfunção mitocondrial no TB, produzindo um metabolismo energético alterado, mudanças nas enzimas da Cadeia Transportadora de Elétrons (CTE) da cadeia respiratória, níveis alterados do cálcio citoplasmático e alterações na ativação de genes mitocôndrias. O influxo de cálcio do citosol controla a taxa de produção mitocondrial de ATP. O cálcio intramitocondrial ativa três desidrogenases acopladas ao CK, que são o piruvato desidrogenase, isocitrato desidrogenase e α-cetoglutarato desidrogenase. Além disso, a captação de cálcio modula o perfil espacial e temporal da sinalização intracelular de cálcio, regulando a motilidade e a morfologia mitocondrial, podendo levar à morte celular (HOPPE, 2010). Alterações nas concentrações de lactato também são significativamente mais altas em pacientes com TB do que os controles, o que indica o aumento do metabolismo mitocondrial e a utilização anaeróbica da glicose, consistente com o metabolismo mitocondrial alterado no TB. Assim, pesquisas têm contribuído para a compreensão destes mecanismos, explicando parcialmente a toxicidade relacionada com episódios de humor cumulativos no TB, considerando que esta revisão busca, principalmente, explicar alguns destes mecanismos a partir do EO no TB e sua relação com as alterações bioquímicas subjacentes à mitocôndria.

METODOLOGIA

As informações coletadas para essa revisão foram pesquisadas nas seguintes bases de dados disponíveis: ScienceDirect, PubMed/Medline, Embase e Google Scholar, Scopus e SciELO, levando-se em con-

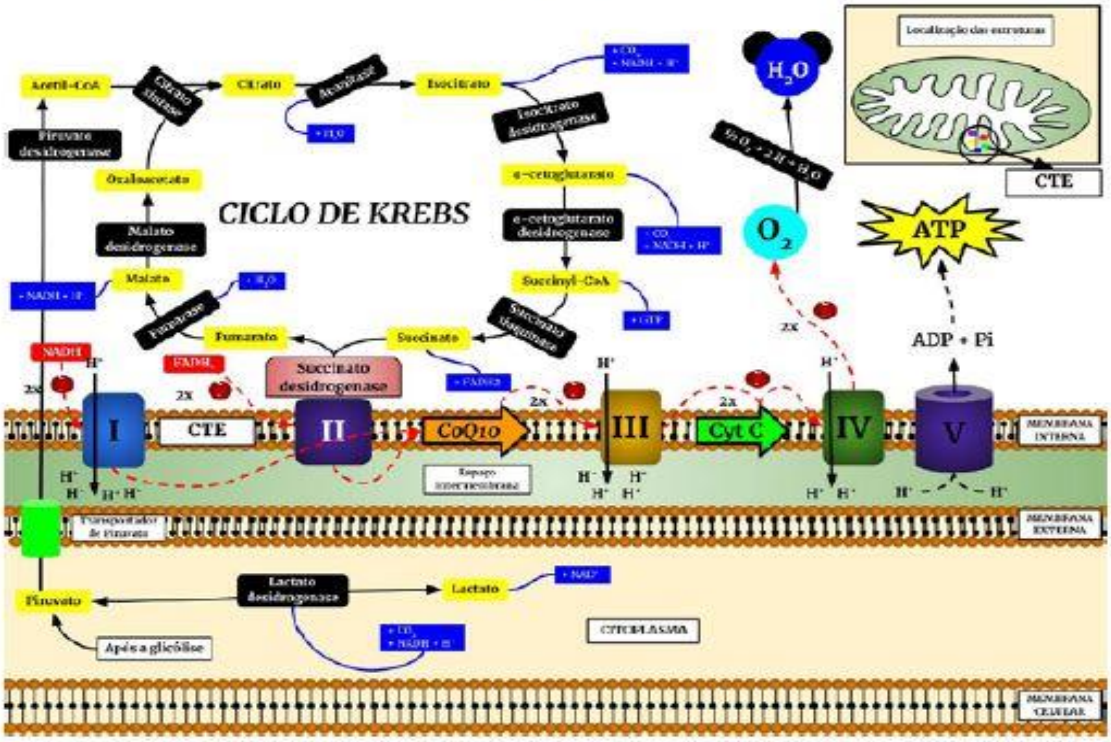
sideração apenas artigos nos idiomas inglês e português. Foram utilizados os seguintes termos para pesquisa: transtorno bipolar, estresse oxidativo, EROs, ERNs, radicais livres (RL), antioxidante, NO, peroxidação lipídica, TBA-RS, proteína carbonil 3-nitrotirosina, catalase, glutationa, oxidação do DNA e neuroprogressão. As publicações foram selecionadas por título e conteúdo no resumo inicialmente, e, depois, por conteúdo completo. Como critério de seleção foram usados os artigos a partir de 2000 até 2019, com exceção de trabalhos clássicos, priorizando os artigos dos últimos cinco anos.

MITOCÔNDRIA

Mitocôndrias são organelas especializadas, encontradas somente em células eucariontes, sendo responsáveis por várias funções celulares, como modulação da atividade neuronal, morfogênese, neuroplasticidade e produção energética, sendo cruciais na morte celular. No geral, são compostas por dois complexos de membranas, separados por um espaço intermembrana, o qual possui inúmeras invaginações que formam as cristas mitocondriais, em que estão presentes as proteínas da CTE, cujo número e morfologia refletem a demanda de energia (DING *et al.*, 2012). A síntese de proteínas mitocondriais envolve a expressão do DNA nuclear (nDNA) e do mtDNA, dando origem ao complexo mitocondrial (WIEDEMANN; PFANNER, 2017). O nDNA codifica a vasta maioria de proteínas mitocondriais, sendo responsável por sintetizá-las no citosol e importar para a membrana interna e externa da mitocôndria por meio da translocação de proteínas (KANG; FIELDEN; STOJANOVSKI, 2018). O mtDNA é composto por uma cadeia pesada e uma cadeia leve, contendo 28 genes e 9 genes, respectivamente (HÄLLBERG; LARSSON, 2014). Esses 37 genes são responsáveis pela síntese RNAs, sendo 2 genes responsáveis pelo RNA ribossômico, 22 genes responsáveis pelos RNAs transportadores e 13 pelos RNAs mensageiros que, após translação, geram polipeptídeos que estão envolvidos na fosforilação oxidativa (Oxphos) (BJÖRKHOLM *et al.*, 2015). As proteínas geradas pelo mtDNA estão presentes em quatro das cinco proteínas da CTE, posto que mudanças em sua estrutura podem afetar o metabolismo. Conforme demonstrado na Figura 1, as mitocôndrias metabolizam carboidratos e ácidos graxos, produzindo energia por intermédio da geração de ATP. Essa geração ocorre na matriz mitocondrial, enquanto as etapas iniciais do metabolismo de carboidratos acontecem fora da organela e, para que isso ocorra, dois processos são necessários: CK e Oxphos. Inicialmente, a glicose é convertida em piruvato e, então, transportada para a matriz. Já os ácidos graxos, no entanto, são oxidados no interior da matriz mitocondrial. O ATP é produzido mediante três etapas interconectadas. Na primeira, o piruvato e os ácidos graxos são convertidos em moléculas conhecidas como acetil-CoA por meio de enzimas presentes na matriz. Na segunda etapa, essa substância torna-se a base para a cadeia de reações químicas conhecida como CK (PEI; WALLACE; 2018). Por fim, o ciclo é formado por uma série de reações químicas em que o dióxido de carbono e duas moléculas, ricas em elétrons, o NADH e o dinucleotídeo de flavina e adenina ($FADH_2$), são produzidos. Na terceira etapa, o NADH e $FADH_2$ são movidos para o interior da membrana mitocondrial. Na última etapa química, ocorre a doação de elétrons para a CTE, o que leva à produção de ATP. Para a execução desse processo, o complexo I e o II recebem elétrons do NADH e $FADH_2$, respectivamente (ENRÍQUEZ, 2016). Ambos transferem esses para a Coenzima Q10, que é uma enzima essencial em virtude das suas propriedades antioxidantes. A Coenzima Q10 transfere os elétrons para o complexo III, quando são transportados para o complexo IV pelo Citocromo C (ALVAREZ-PAGGI *et al.*, 2017). No complexo IV, elétrons são transferidos para o oxigênio molecular formando água (MILENKOVIC *et al.*, 2017; ENRÍQUEZ, 2016). Finalmente, o hidrogênio é transportado pelo complexo V, também chamado de ATP sintase, de volta à matriz mitocondrial, para a formação de ATP por meio do ADP e do fosfato inorgânico. O ATP alimenta várias funções da célula e do organismo como um todo (VIDYASAGAR, 2015). Podemos ver que todas as estruturas da CTE dependem de certos níveis de codificação nuclear e mitocondrial, com exceção do Complexo II, que é codificado exclusivamente por mtDNA. O complexo II tem especial importância no metabolismo energético, posto que este complexo possui dois domínios catalíticos especializados: um deles transfere os elétrons recebidos do $FADH_2$ para a Coenzima Q10, e o outro converte succinato em fumarato – gerando uma molécula de $FADH_2$, participando tanto no CK quanto na CTE.

Com o passar do tempo, as funções mitocôndrias vão se tornando menos efetivas, o que inclui o desemparelhamento do complexo I e, com menor frequência, a diminuição da atividade do complexo III (SCAINI *et al.*, 2016). A atividade alterada dos complexos da CTE leva à produção aumentada de EROs e ERNs (VALVASSORI *et al.*, 2018), ao comprometimento do equilíbrio de cálcio intracelular e a mutações do DNA (MONICZEWSKI *et al.*, 2015). Com isso, estas dis-

Figura 1 –



* Em organismos aeróbicos, a glicose é oxidada em CO_2 e H_2O. O piruvato apresentado no citosol da célula é oxidado em acetil-CoA e pode, assim, entrar no CK, que é composto de um complexo de enzimas, localizado no citosol mitocondrial de células eucarióticas. Com isso há a produção de NADH e $FADH_2$ que serão encaminhados para a CTE na membrana interna mitocondrial. O fluxo de elétrons ocorre por meio dos complexos proteicos, sendo acompanhado por um fluxo de prótons para o espaço intermembrana, que produz um gradiente químico e elétrico e que retorna pela ATP sintase, produzindo a força necessária para a síntese de ATP.

funções mitocondriais têm sido implicadas na neuroprogressão e no prejuízo cognitivo, que, conjuntamente com estudos clínicos, têm demonstrado alterações nos parâmetros do EO presentes na fisiopatologia das doenças psiquiátricas (MOYLAN *et al.*, 2013).

Outro ponto importante a ser lembrado é que as células produzem potenciais na membrana plasmática após estímulo, e, da mesma forma, quando não são excitadas, não há mudanças nas cargas iônicas que produzam a despolarização, mas mostram alguma queda de eletronegatividade. Isso é o suficiente para ativar a proliferação de genes da célula e iniciar o processo de fissão mitocondrial (PEREIRA, 2015). Além disso, o fluxo de prótons, que produz um gradiente eletroquímico, é iniciado pela mudança do potencial de membrana mitocondrial (PMM). Estudos mostram que, com o baixo PMM, a mitocôndria pode aumentar a atividade da CTE entre complexos enzimáticos (ANGRIMANI *et al.*, 2015).

Mitocôndria e Estresse Oxidativo

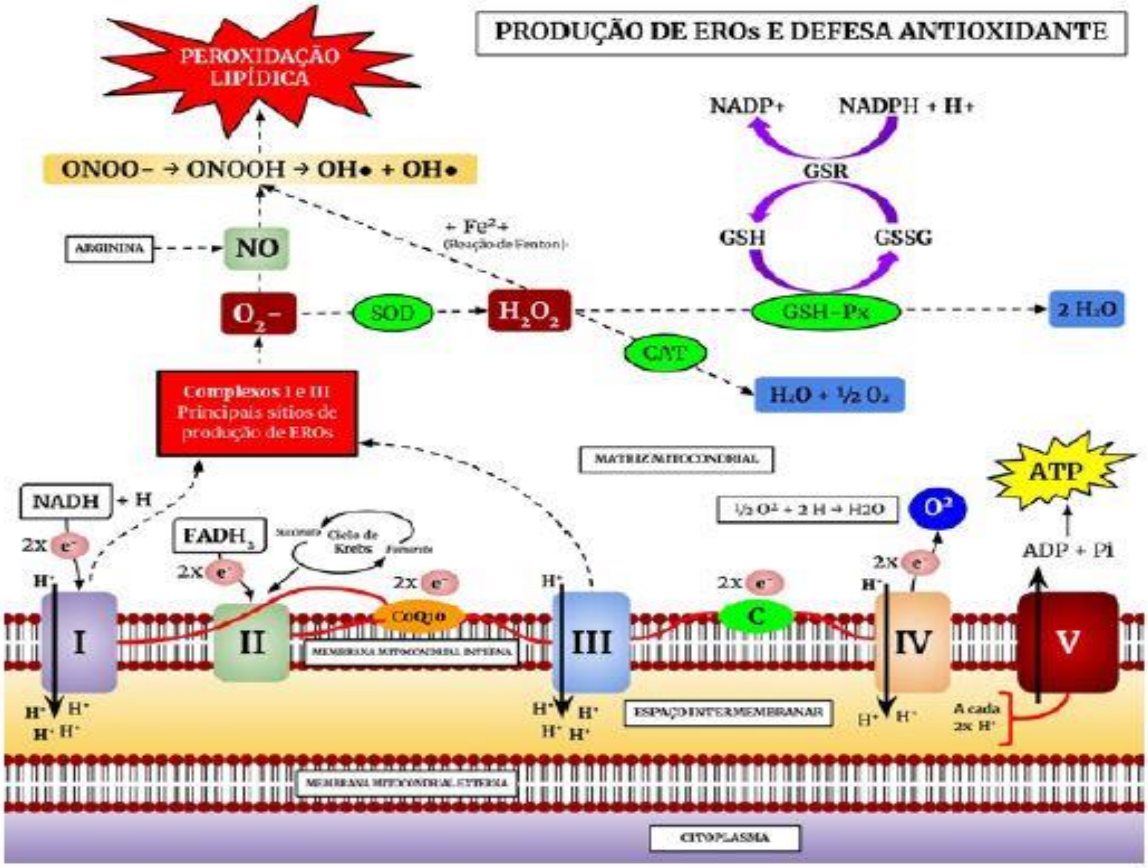
A produção de RL é um processo fisiológico e constante, mas quando em desequilíbrio, seja aumentando a produção de RL ou reduzindo a atividade de sistemas antioxidantes, pode ser prejudicial e levar ao EO (CEMILE; ÇIGDEM, 2016). Também pode danificar a membrana celular, gerando peroxidação lipídica e alterando o transporte transmembrana (OBEAGU, 2018). Os RLs são moléculas instáveis e altamente reativas com outras moléculas, produzidas pelo metabolismo aeróbico celular e possuem, pelo menos, um elétron desemparelhado na camada mais externa. Os RLs mais comumente relatados são: superóxido ($O_2^{\bullet -}$), hidroxila ($OH^{\bullet}$), óxido nítrico ($NO^{\bullet}$), dióxido de nitrogênio (NO_2), peroxil ($ROO^{\cdot}$) e peroxil-lipídeo ($LOO^{\cdot}$) (LUSHCHAK, 2015). O $O_2^{\bullet -}$ é formado a partir da primeira redução de O_2 com um elétron e produzido basicamente em mitocôndrias, microssomas e peroxissomas. Possui pouca reatividade em meio aquoso, e

suas reações podem desencadear a formação de OH^-, OH• e $O_2•^-$ e, quando em meio ácido, de H_2O_2. O H_2O_2 é altamente tóxico para as células em razão da sua longa meia-vida e sua capacidade de atravessar as membranas lipídicas, também reagindo com a membrana eritrocitária e proteínas ligadas ao ferro, causando danos às moléculas por meio da geração de novas EROs, como OH• (MONICZEWSKI *et al.*, 2015). Conforme observado na Figura 2, as membranas plasmáticas são as estruturas celulares mais susceptíveis aos efeitos deletérios dos RLs, uma vez que a peroxidação lipídica altera sua estrutura, reduzindo a seletividade no transporte iônico e a sinalização transmembrana, prejudicando sua permeabilidade e, consequentemente, o transporte celular. Essas alterações podem resultar em morte celular, uma vez que há a liberação de enzimas hidrolíticas dos lisossomos e formação de produtos da lipoperoxidação, como o malondialdeído (MDA), causado principalmente por radicais OH•, e que pode ser mensurado mediante análises de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS). Os níveis de MDA são largamente utilizados como marcadores da peroxidação lipídica nos estados de EO (FRANÇA *et al.*, 2013). Também EROs e ERNs apresentam ação sobre o DNA, principalmente o radical OH•, que leva às alterações na expressão gênica, propiciando o desenvolvimento de numerosos processos patológicos crônicos, como câncer e doenças neurodegenerativas. A CTE, na membrana mitocondrial interna, sob condições normais, converte 1-5% de O_2 em EROs (GHEZZI; ZEVIANI, 2012). Além disso, a produção de $O_2•^-$ e outras EROs ocorrem, principalmente, em dois pontos na CTE: no complexo I (NADH) e no complexo III (ubiquinona – citocromo c redutase). O complexo I e o III podem ser danificados pelo radical OH•. Este radical é altamente reativo e pode causar danos irreparáveis ao mtDNA (KAUPPILA; STEWART, 2015). Concentrações aumentadas de radicais superóxidos, que podem ocorrer em razão de danos no mtDNA, contribuem para a geração do EO, diminuindo a síntese de proteínas importantes para o transporte de elétrons (CASTRO *et al.*, 2012). A formação de RL pode ocorrer de maneira enzimática e não enzimática. São exemplos de reações enzimáticas que envolvem a produção de EROs: a cadeia respiratória mitocondrial, a síntese de prostaglandinas e o sistema do citocromo P450 (SALIM, 2014). Reações não enzimáticas incluem a produção de RL por meio da interação do oxigênio com compostos inorgânicos, como radiação ionizante e Oxphos na mitocôndria. A forma oxidada de NAD^+ na membrana mitocondrial interna é consequência da Oxphos, que é uma das principais fontes de produção de EROs (SHAFIQUE *et al.*, 2017).

Para reduzir os danos causados pela produção de RL, o organismo possui um sistema de defesa antioxidante, que pode ser dividido em enzimático e não enzimático. Antioxidantes não enzimáticos incluem endógenos como glutationa (GSH), que têm a função de remover RLs tóxicos, ou seja, convertê-los em produtos intermediários não tóxicos, e os exógenos, em que a grande maioria deles são obtidos a partir de fontes alimentares, que podem incluir vitaminas C, E (α-tocoferol), carotenoides, compostos organosulfurados, minerais e cofatores que são importante na manutenção da saúde humana (AWAD; ALDOSARI; ABID, 2018). Os antioxidantes enzimáticos são produzidos endogenamente e abrangem um grupo diverso de enzimas que metaboliza RL, repara estruturas celulares ou conjuga diretamente xenobióticos e lipídios peroxidados. Os antioxidantes dessa fase incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa S-transferase (GST), γ-glutamilcisteína sintetase (GCS), glutationa peroxidase (GSH-Px) e glutationa redutase (GR) (JEEVA *et al.*, 2015). A SOD é a primeira enzima que atua como um componente primário contra as EROs. É responsável por catalisar e dismutar moléculas $O_2•^-$ em H_2O_2 e oxigênio molecular (O_2) (DAYAL *et al.*, 2017), exercendo uma ação protetora contra danos no DNA. Outras enzimas antioxidantes no sistema endógeno, essenciais para evitar a morte celular, são a CAT e a GSH-Px (KRISHNAMURTHY; WADHWANI, 2012). A CAT é abundante em quase todos os tecidos, localizados principalmente em peroxissomas, catalisando a redução de H_2O_2 em H_2O e O_2, reduzindo o dano oxidativo (TODOROVIĆ *et al.*, 2016). O H_2O_2, em baixas concentrações, tende a regular processos fisiológicos como proliferação celular, metabolismo de carboidratos, ativação plaquetária e função mitocondrial. Em altas concentrações, no entanto, causam danos às células. A GSH-Px é uma importante enzima intracelular que desempenha um papel crucial na inibição do processo de peroxidação lipídica e, portanto, protege as células do EO. Da mesma forma que a CAT, ela age catalisando a detoxificação de H_2O_2 em H_2O e O_2. Este processo consiste na redução de H_2O_2 por GSH na presença de GSH-Px, formando um composto chamado glutationa oxidada (GSSG), que possui uma ponte dissulfeto (UYS; MULHOLLAND; TOWNSEND, 2014). Conforme mostrado na Figura 2, a GSSG é reduzida pela enzima glutationa redutase, usando elétrons derivados da NADPH, que é formada na via das pentoses fosfato sob a ação da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (CASSIA *et al.*, 2018). O SNC é particularmente vulnerável a danos oxidativos porque o encéfalo usa grandes quantidades de oxigênio, produzindo um excesso de EROs, e tem capacidade antioxidante limitada.

Também no cérebro, os níveis de glutationa são baixos, comparativamente com outros tecidos e/ou células, e estes valores diminuídos podem torná-lo mais sensível a substâncias tóxicas, evidenciando que a glutationa é essencial para o funcionamento do SNC (TODOROVIĆ *et al.*, 2016). Evidências recentes demonstram que a sinalização por EROs tem um papel importante como segundo mensageiro em células imunes inatas e adaptativas. O sistema imune inato responde a padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), ativando receptores de vigilância, como receptores Toll-like (TLRs), receptores semelhantes a NOD (NLRs) e receptores de helicase RIG-like (RLR). EROs são necessárias para a liberação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1β, TNFα, interleucina 8 (IL-8), interferon beta (IFNβ) para uma resposta imunológica adequada, controle de patógenos ou reparo de dano tecidual, uma vez que baixos níveis de EROs mantêm um sistema imunológico saudável (MITTAL *et al.*, 2014). Uma diminuição significativa ou aumento nos níveis de EROs, no entanto, inibem ou hiperativam as respostas imunes inflamatórias adequadas, levando a patologias. A exposição crônica às EROs promove diversas alterações na CTE, ocasionando a perda da formação de ATP, produzindo graves danos em proteínas, lipídios e DNA, e, com isso, produzindo diversas pato-

Figura 2 –



* Sistema de fosforilação oxidativa (OXPHOS) e defesa antioxidante enzimática . Os elétrons derivados do metabolismo celular atingem o complexo I ou II por meio de NADH ou $FADH_2$, respectivamente. Esses elétrons são, então, transferidos para a coenzima Q (ubiquinona), uma transportadora de elétrons do complexo I ou II, para III. Neste último, os elétrons são deslocados do citocromo b para o citocromo c e consequentemente transferidos para o Complexo IV (citocromo C oxidase), quando reduzem o O_2. Esses elétrons são transportados por intermédio de complexos de proteínas mitocondriais e são acoplados para enviar prótons para o espaço intermembranar. O gradiente eletroquímico gerado é usado pelo Complexo V para a síntese de ATP. Os complexos I e II são responsáveis pela produção do ânion superóxido (O2•–), que é removido pela enzima antioxidante SOD e, em seguida, produz peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é removido pelas enzimas CAT e GSH-Px. O superóxido (O_2•-) e H_2O_2 podem levar à produção de radicais hidroxila (OH•), causando lipoperoxidação e lesão celular.

logias psiquiátricas dentre elas o TB (SCOLA *et al.*, 2016). Para finalizar, este processo foi demonstrado em um importante estudo realizado por Wollenhaupt-Aguiar *et al.* (2016), que observaram que alterações bioquímicas do soro de pacientes com TB, tanto nos estágios iniciais quanto nos tardios, induziram uma neurotoxicidade em cultura de células neuronais SH-SY5Y. Foi observada uma diminuição da viabilidade celular com forte redução da densidade de neuritos, principalmente nos estágios tardios da doença.

Estresse Oxidativo e Transtorno Bipolar

Como já descrito anteriormente, o SNC é particularmente vulnerável ao EO, isso em razão do elevado consumo de oxigênio e, consequentemente, da geração de RL, e também por causa da capacidade antioxidante relativamente baixa desta estrutura. Níveis oxidativos neuronais aumentados podem ter efeitos deletérios na transdução de sinal, plasticidade e resiliência celular (OLMEZ; OZYURT, 2012). Diferentes estudos sugerem que a disfunção mitocondrial desempenha um papel importante na fisiopatologia do TB. Estes estudos mostraram que o aumento do EO serve para sinalizar a disfunção mitocondrial, produzindo uma diminuição na atividade da CTE, podendo ser mensurado tanto no sangue periférico quanto em cérebros *post mortem* de pacientes com TB (DE SOUSA *et al.*, 2014). Desta forma, o CK é crítico para a atividade mitocondrial, pois produz substratos que alimentam a Oxphos na CTE mitocondrial. Apesar, entretanto, da importância, poucos estudos foram realizados para avaliar a atividade destas enzimas do CK em pacientes com TB. Um destes estudos foi realizado com 18 pacientes com TB em depressão em fase inicial da doença e virgens de tratamento (DE SOUSA *et al.*, 2015). Observou-se que não houve alteração na atividade enzimática no CK em comparação aos controles, provavelmente em virtude dos mecanismos compensatórios que impediram, nas fases iniciais da doença, que elas ocorressem. Não há estudos, entretanto, demonstrando alterações em fases mais tardias da doença. Também é possível que as alterações nas enzimas no CK estejam presentes apenas em fases maníacas, mas não nas fases depressivas, como sugerido em estudo com modelo animal em mania, que apresentou diminuição da atividade das enzimas do CK (FEIER *et al.*, 2013). Da mesma forma, ocorreu diminuição da enzima malato desidrogenase em cérebro *post mortem* de pacientes com maior tempo de evolução da doença (LEE *et al.*, 2007). O papel do EO na fisiopatologia do TB tem sido investigado em vários estudos que relatam, consistentemente, mudanças nas enzimas antioxidantes, na peroxidação lipídica e nos níveis de NO•, importantes marcadores do EO (TUNÇEL *et al.*, 2015). Os níveis séricos de TBA-RS, durante as fases de mania ou depressão, foram relatados como sendo maiores quando comparados a controles saudáveis (SIWEK *et al.*, 2016). A exposição aguda a EROs levaria ao mau funcionamento dos complexos centrais de elétrons Fe-S na CTE, nos complexos I, II e III, resultando na decomposição da produção de energia mitocondrial (FREDERICO *et al.*, 2012). Além disso, mudanças nas enzimas antioxidantes, CAT, SOD, GSH-Px e peroxidação lipídica, identificada pelo aumento do TBA-RS e danos ao DNA, foram relatadas no TB. No TB ocorre uma diminuição dos níveis de GSH principalmente no córtex pré-frontal dos pacientes (GAWRYLUK *et al.*, 2011). Quanto às enzimas antioxidantes, aumentos séricos foram observados em pacientes tanto em fase maníaca quanto depressiva em relação aos controles saudáveis na maior parte das pesquisas. Halliwell (2006) demonstrou aumento dos níveis de SOD, CAT e GSH-Px em pacientes com TB tanto em fase maníaca quanto depressiva. Salim *et al.* (2011) também relataram um aumento na atividade do SOD em pacientes medicados ou não com TB durante um episódio maníaco. Outro estudo encontrou um aumento na atividade da SOD em pacientes durante episódios agudos de depressão bipolar, mas não em pacientes eutímicos (SINGH; SINGH; CHAN, 2010). A atividade da catalase também diminuiu em pacientes eutímicos, mas aumentou em pacientes sem medicação durante a mania (RAFFA *et al.*, 2012). Curiosamente, Vasconcelos-Moreno *et al.* (2017) encontraram a atividade da GSH-Px diminuída em pacientes com TB em comparação com pacientes saudáveis, e demonstraram um aumento de danos no DNA em pacientes com depressão bipolar. Isso demonstra que a gravidade dos sintomas depressivos e maníacos tem uma correlação positiva com os danos no DNA (ANDREAZZA *et al.*, 2010). Em relação à oxidação da proteína mitocondrial, foi demonstrado que os pacientes com TB apresentam níveis mais elevados do que os encontrados nos controles (CHUNG *et al.*, 2013). Também foi observado que existe uma correlação negativa entre a intensidade da depressão e a atividade do complexo II nos linfócitos de pacientes bipolares em depressão, assim como uma correlação positiva entre a depressão e os níveis de SOD, TBA-RS e proteínas carboniladas. Os parâmetros do EO mitocondrial e da atividade do complexo II desempenham papéis importantes no TB (VALVASSORI *et al.*, 2018). Todos estes resultados sugerem que as alterações nas enzimas antioxidantes podem mudar em virtude do tratamento e as fases da doença. As disfunções mitocondriais, a partir

da ativação das vias inflamatórias, estão presentes no TB. Níveis mais altos de citocinas inflamatórias e diminuição da atividade do complexo I da CTE foram encontrados no cérebro e células periféricas de pacientes com TB, levando ao aumento da produção de EROs mitocondriais (KIM; CHEN; ANDREAZZA, 2015). O mesmo foi encontrado por Kim *et al.* (2016), mostrando que a ativação do sistema inflamatório, por meio de níveis aumentados de caspase-1, IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-10 e IFN-γ, induz à produção de EROs, provocando alterações mitocondriais na CTE. Em recente meta-análise exploratória realizada por Rowland *et al.* (2018), que incluiu 53 estudos, compreendendo 2.467 pacientes com TB e 2.360 controles saudáveis, separados por estado afetivo (eutimia, mania, depressão) e avaliando 14 diferentes biomarcadores para TB, tais como neurotrofinas, marcadores inflamatórios e de EO, observaram que uma combinação de diferentes biomarcadores, como IL-6, BDNF, TNF-α e sTNFR1, apresentavam taxas alteradas de forma diferenciada durante cada estágio de humor. Este resultado pode diferenciar pacientes com TB de controles saudáveis e indicar uma fase específica de humor. Finalmente, o uso de medicações podem interferir no EO. O carbonato de lítio e o ácido valpróico são drogas utilizadas no tratamento do TB, apresentando a estabilização do humor, proporcionando efeitos antioxidantes e protetores para os sintomas do TB, produzindo aumento da função mitocondrial. O lítio aumentou diretamente a atividade do complexo I da CTE mitocondrial (SUN *et al.*, 2006) e ambas as substâncias podem induzir a fosforilação do complexo III e V, aumentando a produção energética (CORENA-McLEOD *et al.*, 2013). Assim, o EO piora a função mitocondrial e a disfunção gera EO, um influenciando o outro. Contudo, os medicamentos atuam melhorando a função mitocondrial como um todo, o que poderia explicar a modulação do humor com o tratamento.

CONCLUSÃO

Compreender os mecanismos fisiopatológicos e sistêmicos do TB contribui significativamente para melhorar a compreensão da atividade da doença. A disfunção que decorre de múltiplos episódios de humor do TB demonstra evidências fortes que sugerem seu envolvimento com EO e, consequentemente, com os danos da função mitocondrial. A exposição aguda à EROs e ERNs leva a um mau funcionamento dos complexos centrais de elétrons Fe-S na CTE, resultando na queda de produção de energia mitocondrial. Além disso, mudanças nas enzimas antioxidantes CAT, SOD e GSH-Px, peroxidação lipídica identificada pelo aumento do TBA-RS e danos ao mtDNA, foram relatados nos episódios de depressão e mania bipolar.

Essa revisão contribui para a compreensão deste transtorno complexo e multidimensional, e pode revelar alvos para o diagnóstico, prognóstico e tratamento da doença bipolar.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ-PAGGI, D. *et al.* Multifunctional cytochrome *c*: learning new tricks from an old dog. *Chem Rev*, v. 117, n. 21, p. 13.382-13.460, 2017.

ANDREAZZA, A. C. *et al.* Mitochondrial complex I activity and oxidative damage to mitochondrial proteins in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder. *Arch. Gen. Psychiatry*, v. 67, p. 360-368, 2010.

ANGRIMANI, D. S. R. *et al.* Tools for evaluating the functionality of sperm mitochondria. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v. 39, n. 2, p. 277-283, 2015.

ASKEW, K. *et al.* Coupled proliferation and apoptosis maintain the rapid turnover of microglia in the adult brain. *Cell reports*, v. 18, p. 391-405, 2017.

AWAD, M. A.; ALDOSARI, S. R.; ABID, M. R. Genetic alterations in oxidant and anti-oxidant enzymes in the vascular system. *Front Cardiovasc Med*, v. 9, p. 105-107, 2018.

BERK, M. *et al.* Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: Focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, v. 35, p. 804-817, 2011.

BJÖRKHOLM, P. *et al.* Mitochondrial genomes are retained by selective constraints on protein targeting. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 112, n. 33, p. 10.154-10.161, 2015.

CASSIA, R. *et al.* Climate change and the impact of greenhouse gasses: CO_2 and NO, friends and foes of plant oxidative stress. *Frontiers Plant Sci*, v. 9, p. 1-11, 2018.

CASTRO, M. D. R. *et al.* Aging increases mitochondrial DNA damage and oxidative stress in liver of rhesus monkeys. *Exp. Gerontol*, v. 47, n. 1, p. 29-37, 2012.

CEMILE, M. S.; ÇIGDEM, E. The effects of oxidative stress and some of the popular antioxidants on reproductive system: A Mini Review. *J Nutr Food Sci*, v. 6, n. 2, p. 1-3, 2016.

CHEN, Y.; SHENG, Z. Kinesin-1–syntaphilin coupling mediates activity-dependent regulation of axonal mitochondrial transport. *Journal of Cell Bio*, v. 202, n. 2, p. 351-364, 2013.

CHU, C. T. Mechanisms of selective autophagy and mitophagy: Implications for neurodegenerative diseases. *Neurobiology of Disease*, v. 122, p. 23-34, 2019.

CHUNG, C. P. *et al.* Increased oxidative stress in patients with depression and its relationship to treatment. *Psychiatry Res*, v. 206, n. 2, p. 213-216, 2013.

CLEMENTE, A. *et al.* Bipolar disorder prevalence: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 155-161, 2015.

CORENA-MCLEOD, M. *et al.* New model of action for mood stabilizers: phosphoproteome from rat pre-frontal cortex synaptoneurosomal preparations. *PLoS One* v. 8, n. 5, e52147, 2013.

DAYAL, S. *et al.* Deficiency of superoxide dismutase promotes cerebral vascular hypertrophy and vascular dysfunction in hyperhomocysteinemia. *PloS One*, v. 12, n. 4, p. 1-15, 2017.

DE SOUSA, R. T. *et al.* Targeting mitochondrially mediated plasticity to develop improved therapeutics for bipolar disorder. *Expert Opin. Ther. Targets*, v. 18, p. 1.131-1.147, 2014.

DE SOUSA, R. T. *et al.* Regulation of leukocyte tricarboxylic acid cycle in drug-naïve Bipolar Disorder. *Neurosci Lett*, v. 605, p. 65-68, 2015.

DING, W. X. *et al.* Electron microscopic analysis of a spherical mitochondrial structure. *J Biol Chem*, v. 7, p. 42.373-42.378, 2012.

ENRÍQUEZ, J. A. Supramolecular organization of respiratory complexes. *Annu Rev Physiol*, v. 78, p. 533-561, 2016.

FEIER, G. *et al.* Lithium and valproate modulate energy metabolism in an animal model of mania induced by methamphetamine. *Pharmacol. Biochem. Behav*, v. 103, p. 589-596, 2013.

FERENSZTAJN, E.; RYBAKOWSKI, J. Staging of bipolar affective illness. *Psychiatria Polska*, v. 46, n. 4, p. 613-626, 2012.

FÖCKING, M. *et al.* Proteomic analysis of the postsynaptic density implicate synaptic function and energy pathways in bipolar disorder. *Translational Psychiatry*, v. 6, p. 1-9, 2016.

FRANÇA, B. K. *et al.* Lipid peroxidation and obesity: Methods to measure the oxidative stress of the obese paciente's plasma. *Jornal Português de Gastrenterologia*, v. 20, n. 5, p. 199-200, 2013.

FREDERICO, A. *et al.* Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *J. Neurol. Sci*, v. 322, p. 254-262, 2012.

GAMA, C. S. *et al.* Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. *Rev Bras Psiquiatr*, v. 35, p. 70-74, 2013.

GAWRYLUK, J. W. *et al.* Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, v. 14, n. 1, p. 123-130, 2011.

GEISSMANN, F. *et al.* Unraveling mononuclear phagocyte heterogeneity. *Nat Rev Immunol*, v. 10, n. 6, p. 453-460, 2010.

GHEZZI, D.; ZEVIANI, M. Assembly factors of human mitochondrial respiratory chain complexes: physiology and pathophysiology. *Adv Exp Med Biol*, v. 748, p. 65-106, 2012.

GINHOUX, F.; GUILLIAMS, M. Tissue-resident macrophage ontogeny and homeostasis. *Immunity*, v. 44, p. 439-449, 2016.

GINHOUX, F. *et al.* New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation, and function. *Nat Immunol*, v. 17, p. 34-40, 2016.

GOMEZ, P. E. *et al.* Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature*, v. 518, p. 547-551, 2015.

GRANDE, I. *et al.* Mediators of allostasis and systemic toxicity in bipolar disorder. *Physiol Behav*, v. 106, n. 1, p. 46-50, 2012.

GRANDE, I. *et al.* Staging bipolar disorder: clinical, biochemical, and functional correlates. *Acta Psychiatr Scand*, v. 129, n. 6, p. 437-444, 2014.

HÄLLBERG, B. M.; LARSSON, N. G. Making proteins in the powerhouse. *Cell Metab*, v. 20, n. 2, p. 226-240, 2014.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant. Physiol*, v. 141, p. 312-322, 2006.

HELLWIG, S.; HEINRICH, A.; BIBER, K. The brain's best friend: microglial neurotoxicity revisited. *Front. Cell Neurosci*, v. 16, p. 7-71, 2013.

HERZ, J. *et al.* Myeloid cells and their relationship with the central nervous system. *Immunity*, v. 46, n. 6, p. 943-956, 2017.

HONG, S.; DISSING-OLESEN, L.; STEVENS, B. New insights on the role of microglia in synaptic pruning in health and disease. *Current opinion in neurobiology*, v. 36, p. 128-134, 2016.

HOPPE, H. C. Mitochondrial calcium channels. *Febs Letters*, v. 584, n. 10, p. 1.975-1.981, 2010.

IVANNIKOV, M. V.; SUGIMORI, M.; LLINÁS, R. R. Synaptic vesicle exocytosis in hippocampal synaptosomes correlates directly with total mitochondrial volume. *J. Mol. Neurosci*, v. 49, p. 223-230, 2013.

JEEVA, J. S. *et al.* Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *J Pharm Bioallied Sci*, v. 7, n. 2, p. 331-333, 2015.

JUSTER, R. *et al.* Sexual orientation and disclosure in relation to psychiatric symptoms, diurnal cortisol, and allostatic load. *Psychosomatic Medicine*, v. 75, n. 2, p. 103-116, 2013.

KANG, Y.; FIELDEN, L. F.; STOJANOVSKI, D. Mitochondrial protein transport in health and disease. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, v. 76, p. 142-153, 2018.

KAPCZINSKI, F. *et al.* Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. *Neuroscience & Biobehavioral*, v. 32, n. 4, p. 675-692, 2008.

KAUPPILA, J. H.; STEWART, J. B. Mitochondrial DNA: radically free of free-radical driven mutations. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*, v. 1.847, n. 11, p. 1.354-1.361, 2015.

KAWABORI, M.; YENARI, M. A. The role of the microglia in acute CNS injury. *Metabolic brain disease*, v. 30, n. 2, p. 381-392, 2014.

KETTENMANN, H. *et al.* Physiology of microglia. *Physiol. Rev*, v. 91, p. 461-553, 2011.

KIM, H. K.; CHEN, W.; ANDREAZZA, A. C. The potential role of the NLRP3 inflammasome as a link between mitochondrial complex I dysfunction and inflammation in bipolar disorder. *Neural Plasticity*, v. 2.015, p. 1-10, 2015.

KIM, H. K. *et al.* Nod-like receptor pyrin containing 3 (NLRP3) in the post mortem frontal cortex from patients with bipolar disorder: A potential mediator between mitochondria and immune-activation. *Journal of Psychiatric Research*, v. 72, p. 43-50, 2016.

KRISHNAMURTHY, P.; WADHWANI, A. Antioxidant enzymes and human health. Antioxidant enzyme. *InTech*, 2012. Disponível em: https://www.intechopen.com/books/antioxidant-enzyme/antioxidant-enzymes-and-human-health. Acesso em: 21 jun. 2019.

LEE, B. D. *et al.* Malic enzyme 2 and susceptibility to psychosis and mania. *Psychiatry Res*. v. 150, n. 1, p. 1-11, 2007.

LUSHCHAK, V. Free radicals reactive oxygens species, oxidative stress andits classification. *Chemico-biological Interactions*, v. 224, p. 164-175, 2015.

MACASKILL, A. F.; KITTLER, J. T. Control of mitochondrial transport and localization in neurons. *Trends Cell Biol*, v. 20, n. 2, p. 102-112, 2010.

MANSUR, R. B.; BRIETZKE, E. The "selfish brain" hypothesis for metabolic abnormalities in bipolar disorder and schizophrenia *Trends Psychiatry Psychother*, v. 34, n. 3, 2012.

MCEWEN, B. S. Allostasis, allostatic load, and the aging nervous system: role of excitatory amino acids and excitotoxicity. *Neurochem Res*, v. 25, p. 1.219-1.231, 2000.

MCEWEN, B. S.; GIANAROS, P. J. Stress- and allostasis-induced brain plasticity. *Annu.Rev. Med*, v. 62, p. 431-445, 2011.

MILENKOVIC, D. *et al.* The enigma of the respiratory chain supercomplex. *Cell Metab*, v. 25, p. 765-776, 2017.

MITTAL, M. *et al.* Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal*, v. 20, n. 7, p. 1.126-1.167, 2014.

MONICZEWSKI, A. *et al.* Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 1. Chemical aspects and biological sources of oxidative stress in the brain. *Pharmacologial Reports,* v. 67, p. 560-568, 2015.

MOYLAN, S. *et al.* The neuroprogressive nature of the major depressive disorder: pathways to disease evolution and resistance, and therapeutic implication. *Mol Psychiatry*, v. 18, n. 5, p. 595-606, 2013.

NAKAGAWA, Y.; CHIBA, K. Review role of microglial M1/M2 polarization in relapse and remission of psychiatric disorders and diseases. *Pharmaceuticals,* v. 7, n. 12, p. 1.028-1.048, 2014.

NGUYEN, K. D. *et al.* Alternatively activated macrophages produce catecholamines to sustain adaptive thermogenesis. *Nature*, v. 480, p. 104-108, 2011.

OBEAGU, E. I. A review on free radicals and antioxidants. *Int. J Curr Res Med Sci,* v. 4, n. 2, p. 123-133, 2018.

OLMEZ I.; OZYURT H. Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease. *Neurochem. Int.*, v. 60, n. 2, p. 208-212, 2012.

PEI, L.; WALLACE, D. C. Mitochondrial etiology of neuropsychiatric disorders. *Biol Psychiatry,* v. 83, n. 9, p. 722-730, 2018.

PEREIRA, B. Biogênese mitocondrial e exercício físico: hipótese do acoplamento elétrico-transcripcional *Rev Bras Educ Fis Esporte*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 687-703, 2015.

PFAFFENSELLER, B. *et al.* Neurotrophins, inflammation and oxidative stress as illness activity biomarkers in bipolar disorder. *Expert Rev Neurother*, v. 13, n. 7, p. 827-842, 2013.

PRINZ, M.; PRILLER, J. The role of peripheral immune cells in the CNS in steady state and disease. *Nat Neurosci*, v. 20, p. 136-144, 2017.

RAFFA, M. *et al.* Reduced antioxidante defense systems in schizophrenia and bipolar I disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* v. 39, n. 2, p. 371-375, 2012.

ROWLAND, T. *et al.* Neurotrophins, cytokines, oxidative stress mediators and mood state in bipolar disorder: systematic review and meta-analyses. *Br J Psychiatry,* v. 213, n. 3, p. 514-525, 2018.

SALIM, S. *et al.* Novel role of RGS2 in regulation of antioxidant homeostasis in neuronal cells. *FEBS Lett*, v. 585, n. 9, p. 1.375-1.381, 2011.

SALIM, S. Oxidative stress and psychological disorders. *Curr Neuropharmacol*, v. 12, n. 2, p. 140-147, 2014.

SCAINI, G. *et al.* Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: Evidence, pathophysiology and translational implications. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 68, p. 694-713, 2016.

SCOLA, G. *et al.* Lipid peroxidation biomarkers in adolescents with or at high-risk for bipolar disorder. *J. Affect. Disord*, v. 192, p. 176-183, 2016.

SHAFIQUE, E. *et al.* Mitochondrial redox plays a critical role in the paradoxical effects of NAPDH oxidase derived ROS on coronary endothelium. *Cardiovasc Res*, v. 113, p. 234-246, 2017.

SIGITOVA, E. *et al.* Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder. *Psychiatry and Clinical Neurosciences,* v. 71, n. 2, p. 77-103, 2017.

SINGH, V.; SINGH, S. P.; CHAN, K. Review and meta-analysis of usage of ginkgo as an adjunct therapy in chronic schizophrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacol*, v. 13, n. 2, p. 257-271, 2010.

SIWEK, M. *et al.* Thiobarbituric Acid-Reactive Substances: Markers of an Acute Episode and a Late Stage of Bipolar Disorder. *Neuropsychobiology*, v. 73, p. 116-122, 2016.

SUN, X. *et al.* Downregulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci* v. 31, p. 189-196, 2006.

SUN, T. *et al.* Motile axonal mitochondria contribute to the variability of presynaptic strength. *Cell Rep,* v. 4, n. 3, p. 413-419, 2013.

SYLVIA, L. G. *et al.* Medical burden in bipolar disorder: findings from the Clinical and Health Outcomes Initiative in Comparative Effectiveness for Bipolar Disorder study. *Bipolar Disord*, v. 17, n. 2, p. 212-223, 2015.

TODOROVIĆ, N. *et al.* Olanzapine modulation of hepatic oxidative stress and inflammation in socially isolated rats. *Pharmaceutical Sciences,* v. 81, p. 94-102, 2016.

TUNÇEL, Ö. K. *et al.* Oxidative stress in bipolar and schizophrenia patients. *Psychiatry Resarch,* v. 228, n. 3, p. 688-694, 2015.

UYS, J. D.; MULHOLLAND, P. J.; TOWNSEND, D. M. Glutathione and redox signaling in substance abuse, *Biomed. Pharmacother*, v. 68, n. 6, p. 799-807, 2014.

VALVASSORI, S. *et al.* Increased oxidative stress in the mitochondria isolated from lymphocytes of bipolar disorder patients during depressive episodes. *Psychiatry Research*, v. 264, p. 192-201, 2018.

VASCONCELOS-MORENO, M. P. *et al.* Telomere Length, Oxidative Stress, Inflammation and BDNF Levels in Siblings of Patients with Bipolar Disorder: Implications for Accelerated Cellular Aging. *Int J Neuropsychopharmacol*, v. 20, n. 6, p. 445-454, 2017.

VIDYASAGAR, A. What are mitochondria? *Live Science*. 2015. Disponível em: http://www.livescience.com/50679-mitochondria.html 2015. Acesso em: 21 jun. 2019.

VIETA, E. *et al.* The clinical implications of cognitive impairment and allostatic load in bipolar disorder. *Eur Psychiatry*, v. 28, n. 1, p. 21-29, 2013.

WIEDEMANN, N.; PFANNER, N. Mitochondrial machineries for protein import and assembly. *Annu Rev Biochem*, v. 20, n. 86, p. 685-714, 2017.

WOLLENHAUPT-AGUIAR, B. *et al.* Reduced Neurite Density in Neuronal Cell Cultures Exposed to Serum of Patients with Bipolar Disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology Rapid Communication,* v. 19, n. 10, p. 1-5, 2016.

WU, R. *et al.* The relationship between neurotrophins and bipolar disorder. *Expert Rev Neurother*, v. 14, p. 51-65, 2014.

ZHANG, C. L. *et al.* Activity-dependent regulation of mitochondrial motility by calcium and Na/K-ATPase at nodes of Ranvier of myelinated nerves. *J Neurosci*, v. 30, p. 3.555-3.566, 2010.

ZHU, X.; LEE, B.; CHEN, W. Functional energetic responses and individual variance of the human brain revealed by quantitative imaging of adenosine triphosphate production rates. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, v. 38, n. 6, p. 959-972, 2018.

5.3. ARTIGO 3

Assessment of different domain impairments in Cognitive Functions and Functionalities found in Euthymic Patients with Bipolar Disorder I / II - during the early and late phases of the disease, using the FAB and FAST tests.

Luiz Arthur Rangel Cyrino; Claudia Regina Calegari; Maria Cecília Tomasi; Felipe Luis Schmoller Stammerjohann;
Daniela Delwing-de Lima*

Artigo publicado na revista *International Journal of Advanced Enginnering Research na Science*
em Jun. 2021

(Qualis Interdisciplinar A2)

International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)
Peer-Reviewed Journal
ISSN: 2349-6495(P) | 2456-1908(O)
Vol-8, Issue-6, Jun, 2021
Journal Home Page Available: https://ijaers.com/
Article DOI: https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.86.50

Assessment of different domain impairments in Cognitive Functions and Functionalities found in Euthymic Patients with Bipolar Disorder I / II - during the early and late phases of the disease, using the FAB and FAST tests.

Luiz Arthur Rangel Cyrino[1,3,4], Claudia Regina Calegari[5], Maria Cecília Tomasi[3], Felipe Luis Schmoller Stammerjohann[3], Daniela Delwing-de Lima[1,2 *]

[1]Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente;
[2]Department of Medicine - University of Joinville - UNIVILLE - Joinville, Santa Catarina, Brazil
[3]Department of Psychology - University of Joinville - UNIVILLE - Joinville, Santa Catarina, Brazil
[4]Department of Pharmacy - University of Joinville Region - UNIVILLE - Joinville, Santa Catarina, Brazil
[5]Specialist in Neuropsychology, Clinical and Institutional Psychopedagogy and Cognitive-Behavioral Psychotherapy.

Received: 14 May 2021;
Received in revised form:
03 Jun 2021;
Accepted: 19 Jun 2021;
Available online: 30 Jun 2021

©2021 The Author(s). Published by AI Publication. This is an open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

***Keywords* — Bipolar Disorder, Euthymia, Executive Function, Frontal Assessment Battery – FAB, Functioning Assessment Short Test – FAST, Neuropsychological Assessment.**

Abstract *— Objective: In this study, we focus on assessing two key predictors and outcomes in Bipolar Disorder (BD), which are: cognition and functionality performance, dividing them into two subgroups, and then researching for a correlation between them. Methods: Fifty patients with BD in an euthymic phase were divided into two subgroups (≤ 3 years (n=25) and ≥ 10 years (n=25) of the disease) and were then compared with healthy controls (n=25). Psychosocial functioning was assessed using the Short Functionality Assessment Test (FAST), and the Frontal Assessment Battery (FAB) test to assess frontal cognitive functions. Clinical and sociodemographic characteristics were analyzed using unilateral variance analysis, or the chi-square test. In order to verify the correlation between the FAB and FAST tests, Spearman's correlation coefficient test was used Results: Both subgroups of euthymic patients had higher FAST total scores than the healthy control group (9.80 ± 5.94). The groups with ≤ 3 years (20.63 ± 8.21), and ≥ 10 years (27.80 ± 12.50) of the disease presented ($p < 0.001$). Associated with these results, bipolar patients had higher FAST scores in all domains, predominantly with moderate impairment (score 21-40), and lower scores in the following four FAB test domains: conceptualization, sensitivity to interference, inhibitory control, and motor series ($p < 0.05$). The correlation between the FAB and FAST tests showed moderate intensity ($r^2 = -0.539$). Conclusion: This study reinforced the impact of BD on functionality and frontal cognitive functions, demonstrating changes in several domains, and impairment in social, occupational, and cognitive functions in patients with different times of disease onset. Understanding all factors is essential for these patients, which increases the possibility of rehabilitation and response to treatment.*

I. INTRODUCTION

Bipolar Disorder (BD) is characterized as being a chronic disease with severe morbidity, mortality, and high suicide rates **[1].** It is a progressive disease with episodes becoming successively shorter, and frequent over time. Multiple alterations occur in the brain such as changes in neuroplasticity, neurotransmission, failures in apoptosis, activation of the immune-inflammatory process, changes in the calcium signaling pathway; and more recently, on oxidative stress. These events involve a pathological reorganization in the brain and therefore are associated with morphological changes such as a reduction in the volume of the prefrontal cortex, hippocampus, and an enlarged amygdala **[2];[3].** These structural and biochemical changes are highly recurrent and disabling, developing a process known as neuroprogression, with a difference between the initial and final stages of BD. These secondary alterations are possibly caused by multiple episodes of mania and depression during the disease, raising the hypothesis that bipolar patients may have had changes in their neurocognitive performance, with an impact on their daily functionality and psychosocial aspects**[4];[5];[6];[7];[8];[9].** The modifications are usually measurable and characterized by reductions mainly in Executive Functions (EF). The EF is a generic term to describe cognitive processes that allow a person to develop a flexible and independent, goal-directed behavior **[10];[11].**The EF present particularly three main domains (working memory, inhibition, and cognitive flexibility), and they are considered as the basis for other more complex EF, such as; planning, problem-solving, abstract reasoning, among others **[12];[13];[14];[15].** For this reason, many neuropsychological tests can be used, like the recent FAB test **[16].** An impairment of EF is present in several neurological conditions, such as neurodegenerative disorders, traumatic brain injuries, strokes, and more recently in various psychiatric disorders like substance-use disorders **[17];[18],** and schizophrenia **[19].** Although the significance of EF' deficits is not yet fully understood, many studies have shown that patients with BD, even in the euthymic phase, have cognitive dysfunctions, in several domains, such as; verbal memory, EF, impulsivity control, attention, among others. Furthermore, it has also been observed that important functional difficulties, at an occupational, social, and autonomy level, persist in a significant number of patients, even after symptomatic remission **[20];[21];[22];[23].** The presence of this neurocognitive dysfunction in different dimensions during the euthymic state may be one of the determining factors for functional incapacity, as it occurs in patients with other mental pathologies **[24];[25];[26];[27];[28];[29];[30].**

Thus, remission in BD (euthymia) is not synonymous with patients' recovery and functionality **[31].** Gitlin et al. **[32],** have already described that despite the treatment, 73%of the patients relapsed with depression and mania many times over a period of five years. Even for those who did not relapse, changes in their psychosocial functioning were observed, especially in the occupational area, generating a poor prognosis for the disease. The hypothesis related to this phenomenon is the cognitive deficits deriving from chronicity of the clinical course, and the persistent subsyndromal symptoms **[21];[31].** Also, research with patients after the first manic episode, showed that functional impairments were present in up to 70% of patients **[33].** Furthermore, occupational impairment was not significantly different in patients during their first episode, than in those with multiple episodes. Even in a prospective observational study including 3681 patients with episodes of acute or mixed mania for two years (2004 to 2006), Goetz et al. **[34],** found that functional and occupational impairment were already present in the year before their first mania episode. This low functional performance seems to be the norm in patients with BD. However, studies are lacking to establish which clinical variables are associated with cognitive impairment, and what are the impacts of these impairments in BD **[35];[36];[37].** Thus, there are still few studies that compare the profile of the neurocognitive and functional performance of patients with BD in an euthymic phase, with less than 3 years of the disease onset (early), and with more than 10 years of the disease (late), in the above-mentioned category. Therefore, the objectives of this study are to determine a) whether there is any impairment of functionality and frontal neurocognitive functions between two different groups of 25 patients with BD I/II, in an euthymic state (≤ 3 years since the diagnosis of BD since their first manic episode, and ≥10 years since the diagnosis of BD since their first manic episode) compared to healthy controls using FAST and FAB tests, respectively b) what is the nature and magnitude of this cognitive and functional impairment in euthymic bipolar patients at different stages of the disease onset c) whether there are differences in demographic, clinical, and pharmacological characteristics between the euthymic groups (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) and the healthy control group d) if there is any cognitive deficit, which deficits are the most frequent in patients with (≤ 3 and ≥ 10years of the disease) during euthymia e) if the cognitive and functional deficits in euthymic patients (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) are correlated with younger and older patients f) if cognitive and functional deficits in euthymic patients (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) are correlated with study time g) research which category of cutoff scores prevails in the FAST and FAB tests between euthymic patients (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) h) to correlate the variables in the FAB and

FAST tests, and to assess whether the scores in the FAB test had an influence on the scores of the FAST testin both patient groups (≤ 3 years, and ≥ 10 years) whichwere diagnosed with BDsince their first manic episode.

II. METHOD

2.1 Ethics

This study was approved by the Research Ethics Committee of Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE (protocol number 655.037) and followed the ethical rules of the Helsinki Declaration of 1975. All participants provided written informed consent before entering the study. Each patient underwent a clinical and psychiatric evaluation, where demographic, anthropometric, pharmacological data and clinical variables (age at onset, disease duration, number of episodes, number of hospitalizations, time since last relapse and hospitalization, history of suicide attempts, history of psychosis symptoms, rapid cycling history, and family psychiatric history), were collected.

2.2 Participants

The study evaluated 50 outpatients, with BD types I/II, in their euthymic state, who were recruited from the Porto Seguro Psychiatric Hospital, located in the city of Curitiba, Brazil. The participants were divided into three distinct groups, each one with 25 individuals: 25 euthymic BD patients in the early stage of disease (≤ 3 years since the diagnosis of BD from the first manic episode); 25 euthymic BD patients in the late stage of disease (≥ 10 years since the diagnosis of BD from the first manic episode), and 25 healthy controls. The groups were matched by age, gender, profession, marital status, and educational level. Most bipolar patients (84%) of this study participated in a psychoeducation program, which was implemented over the last four years. During sessions, patients are trained in strategies to be applied in their daily routines, as well as coping with stressful situations that present themselves as triggers for new crises. The treatment of these patients includes pharmacotherapy combined with psychoeducation, and some of them have psychological interventions **[38];[39];[40].** The psychiatric diagnosis of BD patients for types I/II was defined in the Manual Diagnosis and Statistics of Mental Disorders (DSM-V), and confirmed by Semi-Structured Clinical Interview, according to DSM-V (SCID-5-CV). Manic and depressive symptoms were assessed using the Young Mania Rating Scale (YMRS) **[41],** and the 17 items version of the Hamilton DepressionRating Scale (HAMD- 17) **[42],** respectively. With HAM-17 scale, were evaluated depressive symptoms that had occurred within the last week, and in YMRS, manic symptoms that had presented themselves within the last 48 hs.

The cutoff scores used in the study were: YMRS > 7 as indicative of mania and, HAMD-17 > 7 as indicative of depression. This selection was made to minimize the bias of symptomatology on psychosocial functioning, which has been widely proven in the literature.

2.3 Criteria

The inclusion criteria of bipolar patients in the euthymic stage were: (a) the patients had been in euthymic phase at least six months (b) active age (18 - 60 years); (c) none of the patients had a history of addiction or substance abusein last year; (d) no history of neurodegenerative diseases, cancer, morbid obesity or trauma (e) patients had no significant comorbid medical conditions, and did not receive medication in addition to those prescribed for their psychiatric condition; these should have been used for at least four weeks; (f) non-smokers (g) not pregnant or breastfeeding (h) patients were able to understand the procedures and protocol and provided written informed consent, and did not present cognitive impairment with disability or dementia, physical disabilities, e.g., visual or hearing impairing.

Healthy controls were selected among hospital staff, and the subjects were matched for demographic parameters of age, gender, education, and marital status. The inclusion criteria of healthy control patients were: (a) active age (18 – 60 years); (b) no diagnosis of BD confirmed by semi-structured clinical interview (SCID-5-CV) (c) no family history of severe mental illness such as schizophrenia, psychotic disorder, major depressive disorder, and BD in first-degree relatives (d) none of the patients had a history of addiction or substance abuse in the last year; (e) patients had no significant comorbid medical conditions and had not received medication for at least four weeks; (f) no history of neurodegenerative diseases, cancer, morbid obesity or trauma (g) non-smokers (h) not pregnant or breastfeeding (i) patients were able to understand the procedures and protocol and provided written informed consent, and did notpresent cognitive impairment with disability or dementia, physical disabilities, e.g., visual or hearing impairing.

2.4 Demographic, Clinical, and Pharmacological Data

All this data was systematically obtained and included in the study. Demographic variables were age, gender, marital status, education level, employment situation, and years of education. Clinical variables were age at onset, illness duration (years), hospitalization and the duration of hospitalizations, suicide attempts, relatives' antecedents of mental diseases, and participation in a psychoeducation group. Also, some psychometric tests were included to

observe the following: to assess the manic symptoms we used the Young Mania Rating Scale (YMRS), and to evaluate the depressive symptoms we assessed the 17 items version of the Hamilton Depression Rating Scale (HAMD-17). To obtain information about functional impairment, we used the Functioning Assessment Short Test (FAST, and to assess frontal lobe functions we used Frontal Assessment Battery (FAB).

2.5. Neuropsychological Assessment

2.5.1. Functioning Assessment Short Test (FAST) and Frontal Assessment Battery (FAB)

In recent years, there has been an essential advancement in clinical measurements that analyze the deterioration of superior functions and in the functional impairment. However, these measurements are elaborated, specialized, exhaustive, and expensive. Thus, more straightforward tests like FAB and FAST help to measure cognitive performance and serve as a screen for further evaluation. In this research, we tried to establish the degree of functional impairment through FAST, and the EF through FAB, analyzing a group of BD I/II patients in their euthymicphase, compared with a healthy control group.

2.5.2. Functioning Assessment Short Test (FAST)

FAST is a tool developed to evaluate functional impairment and has been validated in different populations **[43];[44];[36];[45];[46];[47],** and ages **[48];[49]** in BD patients. An analysis of the FAST psychometric properties showed optimal values of inter-observer reliability between two independent evaluations, differing one week from each other (mean K =0.73). The internal consistency obtained was remarkably high, and Cronbach's alpha was 0.955. There was also a highly significant negative correlation with the Global Assessment of Functioning (GAF) ($r = -0.9$; $p < 0.001$), pointing to a reasonable degree of concurrent validity **[50].**

The FAST scores are evaluated through six functional domains: **Autonomy** (the capacity to make decisions and do things by oneself); **Occupational Functioning** (the capacity to maintain a paid job, the efficiency of performing tasks at work, working in the field in which the patient was educated and earning according to the level of the employment position); **Cognitive Functioning** (the ability to concentrate, perform simple mental calculations, solve problems, and learn and recall new information);**Financial Issues** (the capacity to manage one's finances); **Interpersonal Relationships** (relations with friends and family, involvement in social activities, sexual relationships and the ability to defend one's interests), and **Leisure Time** (the capacity to engage in sports or physical activities and to enjoy hobbies). Four categories were established in the FAST scale of functional impairment cut-offs.

No impairment: from 0 to 11 in the FAST total score. Mild impairment: from 12 to 20 in the FAST total score. Moderate impairment: from 21 to 40 in the FAST total score, Severe impairment: scores above 40 in the FAST total score.). However, patients are not static in a category after an intervention, either pharmacological or psychological, patients can interchange through categories **[44]; [51].**

2.5.3. The Frontal Assessment Battery (FAB)

The Frontal Assessment Battery (FAB) is a brief (10-min) test of EF, consisting of six cognitive tasks that were developed specifically to assess the frontal lobe functions. An analysis of the FAB psychometric properties showed optimal values of inter-observer reliability ($k = 0.87$; $p < 0.001$), an acceptable internal consistency (Cronbach's alpha = 0.78), and an ability to distinguish between patients and controls of 89% **[52];[53]**. In our research, we used the Brazilian version of FAB. This battery consists of six subtests which are: **Similarities** (explores the domain of abstract reasoning/conceptualization) i.e., to identify the link between two objects from the same semantic category (an apple and a banana are both fruits). **Lexical Fluency** (letters) (explores the domains of self-organized strategy and shifting i.e. mental flexibility) where patients produce as many words as they can, beginning with the letter "S" in one minute. **Motor Series** (explores the domain of motor programming/planning). The "fist-edge-palm" series must be performed six times consecutively and spontaneously with their dominant hand. **Conflicting Instruction** (explores the domain of sensitivity to interference). It provides an opposite response to the examiner's alternating signal, e.g. tapping once when the examiner taps twice and vice versa, the single and double tapping are intermixed in a fixed order. Verbal commands conflict with sensory information and subjects should obey initial verbal commands and refrain from following what they see. **Go-No Go Task** (explores the domain of inhibitory control and assesses the ability to withhold a response, inappropriately induced by both previous learning and concomitant sensory information). The same alternating signals used in the previous subtests are again given, but the subjects must now provide different responses, e.g., not tapping when the examiner taps twice and copying the examiner when he taps once. **Prehension Behavior** (explores the domain of environmental independence). The examiner touches both palms, without saying anything or looking at the subject. If the subject spontaneously takes the hands, it means that sensory stimuli and environmental cues can activate patterns of responses that are normally inhibited **[54]**. The maximum score for each subtest is three points (with higher scores indicating better performance), and the total score of the test is calculated by adding the scores of the six

subtests (maximum score =18). Any performance score of 18 to 15 indicates a frontal lobe without disabilities. A performance of 14 to 11 is considered a moderate impairment and below 10 is considered a severe impairment. These score cutoffs were validated to a Portuguese population **[54].**

The FAB test can provide an easier, more reliable, and quicker measure of EF, useful in initial assessments, or when available time and resources are limited. We know that there is variability in the different tests concerning the specificity for some of the different EF measured, in different pathologies **[55].** Nevertheless, this specificity is still low and has been pointed out as a limitation. Another issue is the relative usefulness of these executive screening tools in the different stages of neurodegenerative diseases since the progression generally occurs towards generalized deficits **[56].** Thus, the tests above can be useful for the differential diagnosis in the early stages of the disease(when combined with other measures), while their contribution in later stages may be more related to the description of the neurocognitive phenotype.

Although FAB was initially validated in patients with neurodegenerative diseases and was later extended to other pathologies such as extrapyramidal disorders, vascular damage such as a stroke, dementia such as Alzheimer's disease, and fronto temporal dementia **[52];[57];[58];[54];[59];** more recently, different authors have started to research the use of the FAB test for psychiatric diseases **[60];[61];[62];[63];[64].** Regarding psychiatric illnesses, the FAB test can evaluate thecognitive tasks and be associated with specific areas of the frontal lobes (that is, able to measure, i.e.,conceptualization with the dorsolateral areas, word generation with the medial areas, and inhibitory control with the orbital or medial areas. The FAB test was able to exhibit a degree of sensitivity to focal lesions near the anterior insula in the middle right lower frontal gyrus, and in the lower right frontal gyrus), **[65];[66]**, but it will be discussed forward.

2.6. Statistical analysis

Demographic and clinical variables were analyzed using descriptive statistics, including (mean), and (standard deviation) for quantitative variables and absolute frequency (n), and relatives (%), for qualitative variables with a confidence interval of 95% in both cases. For the qualitative nominal and ordinal data, we used the Chi-square test ($\chi 2$) of Pearson and for two or more groups, we used Fisher's exact test. Parametric and nonparametric testswere used for the analysis of qualitative variables. The assumption of normality and homoscedasticity of each variable was analyzed with the Kolmogorov-Smirnov normality test and Levene's test, respectively. For comparisons of parametric variables between two groups, the Student *t*-test was used, and for more than two groups the Tukey's test of analysis of variance (ANOVA) was used. To compare non-parametric variables between two and three independent samples, the Mann-Whitney tests and the Kruskal-Wallis tests were used, respectively. Dunn's post hoc test was performed to peer comparisons incase the main effects were significant. For association analyses, Pearson correlation was used to test quantitative variables and Spearman correlation for non-quantitativevariables. In addition, we stratified our sample into five groups according to the level of graduation: illiterate, up toprimary school, up to high school, graduate, and postgraduate. The total scores of each test; FAST and FAB, were correlated with age and educational level. It is important to note that this battery of evaluation represents only the beginning of cognitive functions, and only specialists who are trained can give a diagnosis if there are any executive dysfunctions. The most recent version of theSPSS software program (SPSS Inc., Chicago, USA) was used. To calculate the statistical power analyses we used the program - G*Power 3.1. Statistical significance was setat $p < 0.05$for all tests or adopting a level of significance of5% to reject the null hypotheses.

III. RESULTS

3.1. Demographic, Clinical and Pharmacological Characteristics

The demographic and clinical characteristics of the different groups studied were evaluated. The sample included 25 healthy controls, and 50 patients with BDdivided in two groups of euthymic patients (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease). Initially, it was calculated the sample size - difference between two independent means (twotails). The analyses showed an effect size d = 0.853; $\alpha = 0.05$; power (1-β err prob) = 0.80; noncentrality parameter δ =2.89; critical t = 2.01; Df = 44; sample size group 1 = 23; sample size group 2 = 23; total sample size = 46; actual power = 0.808. Thirty-six euthymic patients (72%) were female. The healthy control group had a mean age of (36.1 ± 9.87) and the euthymic patients analyzed had a mean age of (34.9 ± 10.04years in the group of ≤ 3 years of the disease), and (47.4 ± 8.21 years in the group of≥ 10 years of the disease). Utilizing theone-way ANOVA followed byDunn's post hoc test, the means of healthy controls and euthymic patients differ between ages (**$p < 0.01$**). Utilizing the Chi-square test, there was no difference between groups in gender, occupational status, and marital status (**$p > 0.05$**). Also, it was observed after performing the Chi- square test followed by Fisher´s exact test, hat the groups significantly

no differed in terms of their educational level ($p > 0.05$). The mean years of education were (14.7 ± 2.18)years in the healthy control group, and the euthymic patients analyzed had a mean of (13.8 ± 2.70years in the group of ≤ 3 years of the disease), and (12.4 ± 2.77 years in the group of ≥ 10years of the disease). After performing the Kruskal-Wallis test, the groupssignificantly differed in terms of years of education ($p < 0.01$) as seen in **Table 1.**

Table 1: Sociodemographic Characteristics of the Sample

	Healthy Controls n = 25	Bipolar Patients ≤ 3 years of disease n = 25	Bipolar Patients ≥ 10 years of disease n = 25	p - Value
Age, years [b]	36.1 (9.87)	34.9 (10.04)	47.4 (8.21)	P < 0.01 c
Gender, n				P = 0,77 a
Male	9	7	7	
Female	16	18	18	
Marital status n (%)				P = 0,09 a
Married	12 (48.0)	9 (36.0)	15 (64)	
Divorced	1 (4.0)	2 (8.0)	5 (20)	
Widowed	1 (4.0)	0 (0.0)	1 (4)	
Single	11 (44.0)	14 (56.0)	4 (12)	
Education n (%)				P = 0,13 d
Illiterate	-	-	-	
Up to primary school	0 (0.0)	3 (12.0)	4 (16.0)	
Up to high school	10 (40.0)	10 (40.0)	12 (48.0)	
Graduate	12 (48.0)	12 (48.0)	9 (36.0)	
Postgraduate	3 (12.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Years of education [b]	14.7 (2.18)	13.8 (2.70)	12.4 (2.77)	p < 0,01 c
Work situation n (%)				P = 0,17 a
Employed	23 (92.0)	18 (72.0)	13 (52%)	
Unemployed	2 (8.0)	6 (24.0)	10 (40.0)	
Medical benefits	0 (0.0)	1 (4.0)	0 (0.0)	
Invalidity	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (8.0)	

[a] χ^2 [b] Mean (SD) [c] One-way ANOVA followed Dunn's post hoc [d] Fisher's exact test [e] Kruskal-Wallis

The bipolar patients had a mean of disease duration of ≤ 3 years (2.52 ± 0.65), and ≥ 10 years (15.64 ± 6.81), and the mean age at onset of the disease was ≤ 3 years (22.1 ± 7.01), and ≥ 10 years (25.1 ± 6.17). Twenty patients (40%)had previously been hospitalized. Among these patients, the mean duration of hospitalization was (13.2 days ± 0.967), and patients with ≤ 3 years of the disease, attempted suicide 18 times, whereas the patients with ≥ 10 years of the disease attempted suicide 40 times. The familyhistory of BD was positive in 23 patients. Regarding pharmacologic treatment, our results showed that 10 (20%)of the patients were on monotherapy. Among the patients on polypharmacy, 18 (36%), 16 (32%), and 6 (12%) of the patients received 2, 3, and 4 psychotropic medications, respectively. The percentages of mood stabilizers, antipsychotics, antidepressants, and benzodiazepines used in patients according to their clinical symptoms, are presented in **Table 2.** To evaluate the absence of depression or mania in the samples, the HAM-D and YMRS tests were used in the healthy control group, and the euthymic patients' group respectively. The observed results had a mean HAM-D score of (4.32 ± 2.49) for the healthy control group, and (4.10 ± 2.02) for euthymic patients with ≤ 3 years of the disease, and (3.71 ± 1.46) foreuthymic patients with ≥ 10 years of the disease. After performing the ANOVA one-way test, the groups did not differ ($p > 0.05$). Regarding the YMRS score, the meanwas (0.64 ± 0.90) to the healthy control group, and (0.88 ± 1.01) to euthymic patients with ≤ 3 years of the disease, and (1.28 ± 1.13) for euthymic patients with ≥ 10 years of the disease. After performing the Kruskal-Wallis test the groups did not differ ($p > 0.05$) as seen in **Table 2.**

Table 2: Clinical and Pharmacological Characteristics of the Sample

	Healthy Controls n = 25	Bipolar Patients ≤ 3 years of disease n = 25	Bipolar Patients ≥ 10 years of disease n = 25	p - Value
Illness duration (years) [a]	N/A	2.52 (0.65)	15.64 (6.81)	p < 0.001 d
Age of onset (years) [a]	N/A	22.1 (7.01)	25.1 (8.17)	p = 0.62 d
HAM-D total score [a]	4.32 (2.49)	4.10 (2.02)	3.71 (1.46)	p = 0.53 b
YMRS total score [a]	0.64 (0.90)	0.88 (1.01)	1.28 (1.13)	p = 0.08 c
FAST score, median (IQR)	9 (7)	22 (10)	23 (20)	p < 0.001 c
FAB score, median (IQR)	18 (3)	14 (4.5)	14 (3.5)	p < 0.001 b
Hospitalizations n (%)	N/A	12 (48)	8 (32)	
Duration hospitalizations (day) [a]	N/A	13.4 (24.3)	13.0 (36.6)	p = 0.90 d
Suicide attempts n (%)	N/A	18	40	
Family history of affective disorders n (%)	N/A	10 (40)	13 (52)	
Psychoeducation Yes, n (%)	N/A	21 (84)	20 (80)	
Treatment n (%)				
Lithium	N/A	13 (52)	15 (60)	
Other mood stabilizers	N/A	11 (44)	13 (52)	
Atypical antipsychotics	N/A	8 (32)	12 (48)	
Typical antipsychotics	N/A	2 (8)	0 (0)	
Antidepressants	N/A	7 (28)	7 (28)	
Benzodiazepines	N/A	2 (8)	7 (28)	

HAM-D 17 = Hamilton Depression Rating Scale; YMRS = Young Mania Rating Scale; FAST = Functioning Assessment Short Test FAB = Functioning Assessment Short Test IQR = interquartile range N/A = not available [a] Mean (SD) [b] Anova one-way [c] Kruskal-Wallis [d] Mann-Whitney test

3.2. Functional Status and Neurocognitive Performance.

3.2.1. Healthy Controls versus Euthymic Patients

Initially, the means of the 25 healthy control group patients were compared with the 50 euthymic patients. The results of the general functional and cognitive assessments were measured by performing the FAST and FAB tests (mean ± SD), respectively. The means of the FAST test were (9.80 ± 5.94) and (24.6 ± 11.15), respectively; and it was observed after performing the *t*-test followed by the Mann Whitney test ($t = 6.195$; U= 126; $p < 0.001$). The means of the FAB test were (15.72 ± 1.64) and (13.68 ± 2.61),respectively and the results were observed after performing the *t*-test followed by the Mann Whitney test ($t = 3.567$; U= 310;$p < 0.001$). Through the FAST and FAB tests, we concluded that the patients with BD had greater functional and cognitive impairment than healthy controls, as seen in **Table 3** and **Figs. 1-2.** Our results are compatible with other research performed **[44];[50];[45];[67].**

Table 3: Mean Total of FAST and FAB Score in Health Controls and Euthymic Patients with ≤ 3 years and ≥ 10 years of disease

	Healthy Control n= 25	Euthymic Patients n= 50	t	U	p	d
FAST total score Means (± SD)	9.80 (±5.94)	24.60 (±11.09)	6.34	3.24	< 0.001**	-1.663
FAB total score Means (± SD)	15.84 (±1.64)	13.56 (±2.81)	3.56	2.50	< 0.001**	0.938

Note. Means ± standard deviation (SD). FAB = Frontal Assessment Battery FAST = Functioning Assessment Short Test. [*] indicate FAB and FAST scores significantly different between groups by t-test (*t*) and followed by Mann–Whitney test (*U*) for independent samples, *d* = Cohen's effect size. **p < 0.001

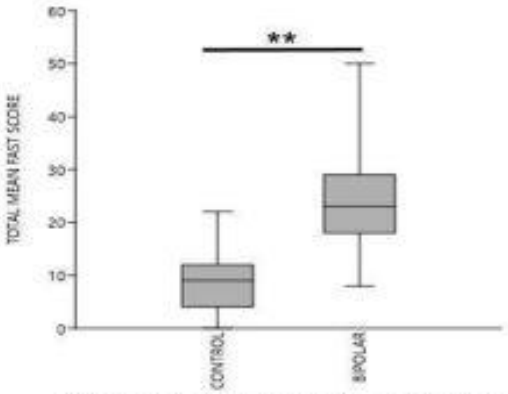


*Fig.1. Box-plot of total means (±SD) Functioning Assessment Short Test (FAST) score in Total BD patients (n=50) and their matched controls (n=25). Median levels are indicated by horizontal lines (Mann-Whitney: control vs. bipolar patients, ** $p < 0.001$)*

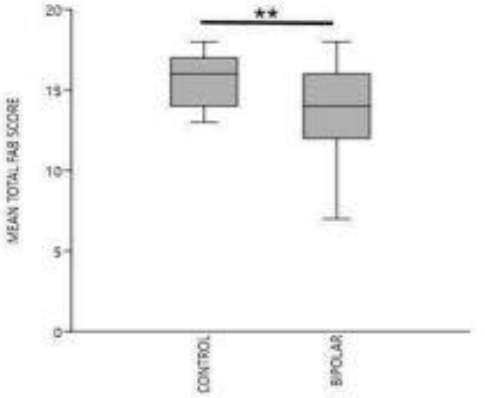


*Fig.2. Box-plot of total means (±SD) Frontal Assessment Battery (FAB) score in Total BD patients (n=50) and their matched controls (n=25). Median levels are indicated by horizontal lines (Mann-Whitney: control vs. bipolar patients, ** $p < 0.001$)*

After this comparison, we divided the euthymic group (n= 50) into two groups (≤ 3 years (n= 25) and ≥ 10 years (n= 25) of the disease). The results of the general functional and cognitive assessments were measured by performing the FAST and FAB tests (mean ± SD), respectively. The total means of the FAST test score to the healthy control group was (9.80 ± 5.94) and the group with ≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease were (20.6 ± 8.21 and 27.8 ± 2.50), respectively; and it was observed after performing the Kruskal-Wallis followed by de Dunn's post hoc test($p < 0.001$). The total means of the FAB test score for the healthy control group was (15.84 ± 1.55), and the group with ≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease were (14.6 ± 2.48 and 12.4 ± 2.78), respectively. The same results were observed after performing the Kruskal-Wallis followed by the Dunn's post hoc test ($p < 0.001$) as seen in **Table 4** and **Figs. 3-4.** Our results showed a significant difference between the groups which will be discussed later.

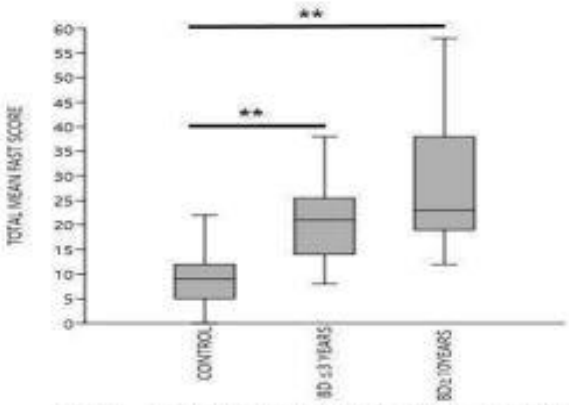


*Fig.3. Box-plot of total means (±SD) Functioning Assessment Short Test (FAST) score between Healthy Control and Patients with ≤ 3 years of disease and ≥ 10 years of disease. Means levels are indicated by horizontal lines (Kruskal-Wallis followed by Dunn's post hoc ** $p < 0.001$).*

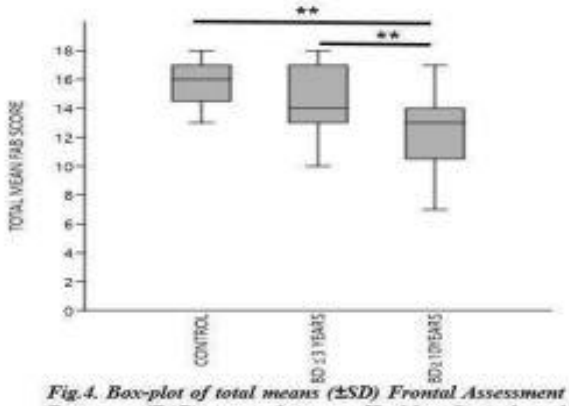


*Fig.4. Box-plot of total means (±SD) Frontal Assessment Battery (FAB) score between Healthy Control and Patients with ≤ 3 years of disease and ≥ 10 years of disease. Means levels are indicated by horizontal lines (One-way ANOVA followed by Dunn's post hoc ** $p < 0.001$).*

Table 4: Mean Total of FAST and FAB Score in Health Controls and Euthymic Patients with ≤ 3 years and ≥ 10 years of disease

	Healthy Control n=25	Euthymic Patients ≤ 3 YEARS OF DISEASE n= 25	Euthymic Patients ≥ 10 YEARS OF DISEASE n= 25	*p*	f_2
FAST Means (± SD) [a]	9.80 (± 5.94)	20.63 (± 8.21)	27.80 (± 12.50)	< 0.001 **	0.7960
FAB Means (± SD) [b]	15.84 (± 1.55)	14.64 (± 2.48)	12.44 (± 2.78)	< 0.001 **	0.6042

Note. Means ± standard deviation (SD). FAB = Frontal Assessment Battery FAST = Functioning Assessment Short Test. [*] indicate FAB and FAST scores significantly different between groups. [a] Kruskal-Wallis followed by Dunn´s post hoc to FAST test **$p < 0.001$ [b] One-way ANOVA followed by Dunn´s post hoc to FAB test ** $p < 0.001$. f_2 –the overall Cohen's effect size

3.2.2. FAST and FAB score and age

Two variables presented a significant statistical difference between the groups; age and years of education, which will be discussed below. Based on previous results, our group decided to divide the euthymic group into two groups by age. For this purpose, we used the median age of the total euthymic patients (median = 41 years). Twenty-five patientswere < 41 years old, and 25 patients were ≥ 41 years old, and the following results were observed. The results of the FAST and FAB tests were performed and were demonstrated for each euthymic patient group (< 41and ≥ 41 years old), respectively. The FAST scoresbetween the group with < 41 years old, were (24.9 ± 11.72), and the group with ≥ 41 years old were (23.3 ± 10.60), and the FAB scores between the group with < 41 years old, were (13.6 ± 3.46), and the group with ≥ 41years old were (13.7 ± 2.09) respectively. After performingther-test, the FAST andFAB scores did not differ with the age groups between (< 41 and ≥ 41 years old). Thus this study showed that to be younger or older (age < 41 years and ≥ 41 years), did not differ in the total scores of the FAST and FAB tests. However, different authors observed that age could influence the results **$p > 0.05$)** as seen in **Table 5** and **Fig. 5-6.** Thus, this study showed that to be younger or older (age < 41 years and ≥ 41 years), did not differ in the total scoresof the FAST and FAB tests. However, different authors observed that age could influence the results **[63];[77],** and it will be discussed later.

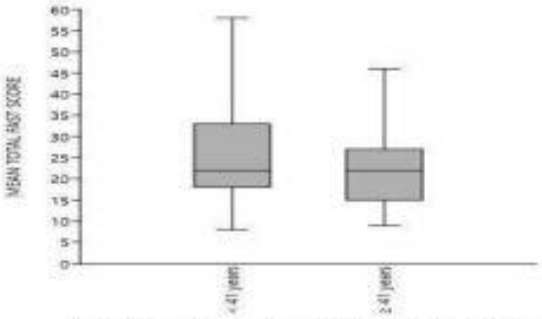


Fig.5. Mean Total of FAST Score in Euthymic Patients with Median < 41 and ≥ 41 years old

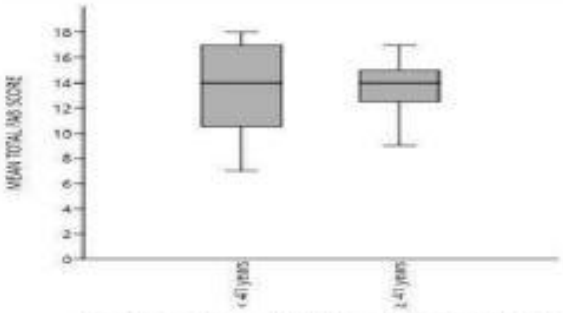


Fig. 6. Mean Total of FAB Score in Euthymic Patients with Median < 41 and ≥ 41 years old

Table 5: Mean Total of FAST and FAB Scores in Health Controls and Euthymic Patients with median < 41 and ≥ 41 years old

	Euthymic Patients median < 41 YEARS n= 25	Euthymic Patients median ≥ 41 YEARS n= 25	*t*	F	*p* - Value	*d*
FAST Means (± SD)	24.9 (± 11.72)	23.3 (± 10.60)	0.50	2.73	$p > 0.05$ [a]	0.143
FAB Means (± SD)	13.6 (± 3.46)	13.7 (± 2.09)	0.44	2.73	$p > 0.05$ [a]	-0.034

Note. Means ± standard deviation (SD). FAB = Frontal Assessment Battery. FAST = Functioning Assessment Short Test. After performing the *t*-test (*t*), the groups did not differ in age for independent samples. $p > 0.05$ d = Cohen's effect size

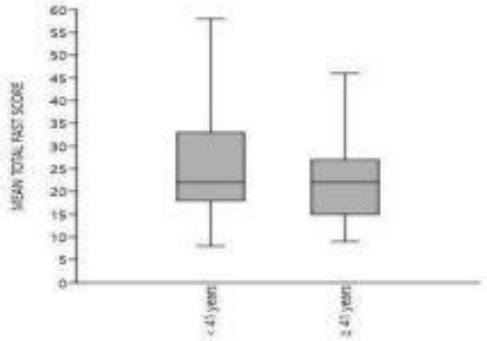


Fig.5. Mean Total of FAST Score in Euthymic Patients with Median < 41 and ≥ 41 years old

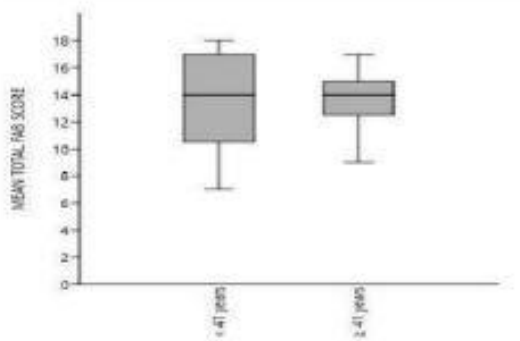


Fig. 6. Mean Total of FAB Score in Euthymic Patients with Median < 41 and ≥ 41 years old

3.2.3. FAST and FAB score and years of study

In addition to age, another point that was assessed by our study and which may interfere in the FAST and FABresults, is the number of years spent studying. Various authors observed that the study time could influence the test results **[70];[68];[69].** Our samples (healthy control patients and euthymicpatients with ≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease), presented a study time variation between (8 to 18 years). The mean total of years of study in the healthy control group, and in the groups with ≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease, were (14.7 ± 2.18), (13.8 ± 2.70), and (12.4 ± 2.77) respectively. After performing the Kruskal-Wallis test, the groups differed statistically **($p < 0.001$)** as seen in **Table 1** and **Fig. 7**.

The (means ± SD) of the FAST scores between the patients group with ≤ 3 years and ≥ 10 years ofthe disease),were (20.5 ± 8.21) and (27.7 ± 12.50) respectively. After performing the *t*-test the groups differed in study time (t = 2.40; F = 2.41; **$p < 0.04$**). The (means ± SD) of FAB scores between the patients group with (≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease) were (14.6 ± 2.48), and (12.36 ± 2.76) respectively. After performing the *t*-test the groups differed in study time (t = 2.49; F = 1.25; **$p < 0.01$**), see **Table 6** and **Fig. 7.** Thus, this study demonstrated that the mean total of theFAST and FABtests scores, differed significantly between the groups with (≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease), related to the amount of years spent oneducation, as seen in **Table 6.**

***Table 6:** Mean Total of FAST and FAB Scores between Euthymic Patients with ≤ 3 years and ≥ 10 years of disease with the mean of years of study*

	Euthymic Patients BD ≤ 3 YEARS n= 25 YEARS OF STUDY 13.84 (± 2.70)	Euthymic Patients BD ≥ 10 YEARS n= 25 YEARS OF STUDY 12.4 (± 2.78)	*t*	F	U	*p* - Value	*d*
FAST Means (± SD) [a]	20.5 (± 8.21)	27.7 (± 12.50)	2.40	2.31	209	$p < 0.04$ *	0.340
FAB Means (± SD) [a]	14.6 (± 2.48)	12.36 (± 2.76)	2.49	1.25	177	$p < 0.01$ **	0.417

Note. Means ± standard deviation (SD). FAB = Frontal Assessment Battery. FAST = Functioning Assessment Short Test. [*] indicate FAB and FAST scores significantly different between groups. [a] t-test (*t*) followed by Mann–Whitney test (*U*) for independent samples, $*p < 0.05$ $**p < 0.01$ *f2* =the overall Cohen's effect size

3.2.4. Categories Scores of FAST and FAB tests in Healthy controls and Euthymic patients

As mentioned above, FAST and FAB tests have different scoring categories. These different categories demonstratea greater or lesser severity in the patient's functionality in their daily life using the (FAST) test, and impairment or non- impairment in the frontal cognitive activity, using the (FAB) test. **Tables 7-8** show the cut- off lines for the categories concerning functionality (FAST), and cognitive (FAB) impairments. **Table 7, d**emonstrates that the majority of the euthymic patients (58%; n=29) presented a moderate level of impairment in theFAST test scores, both with ≤ 3 years (60%; n=15) and with ≥ 10 years (56%; n=14) of the disease, when comparedto the healthy controlgroup where the majority were in the non-impairment group (76%; n=18). The same phenomenon was observed in **Table 8**; which also showed a moderate level of impairment in the FAB test scores, and an important number of euthymic patients (54%; n=27), as well as in the group with ≤ 3 years (52%; n=13) and the group with ≥ 10 years (56%; n=14) of the disease when compared to the heathy control group, where the majortity were in the non impairment group (76%; n=18) **($p < 0.01$).** However, when we compared only the groups of Euthymic patients with (≤ 3 years and ≥ 10 yerars of the disease) using the chi-square (X^2) test analysis, we observed that there was a significant difference in the FAST test scores between the groups, but we did not observe the same concerning the FAB test.

3.2.5. Categories Scores of FAST test in Healthy Controls and Euthymic patients

Significant differences were found in all distinct domains of the FAST test between total euthymic patients (n = 50)

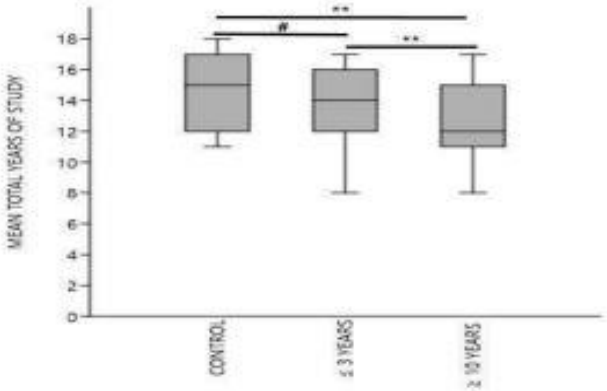


*Fig.7. Mean Total of years of study between control group and Euthymic Patients with ≤ 3 years and ≥ 10 years. ** $p < 0.001$ # $p > 0.05$*

and healthy controls (n = 25), showing the influence of BD over the functionalities. Specifically, patients showed a decrease in occupational, autonomy, cognitive and interpersonal domains, and also had the most significant statistical differences **($p < 0.001$),** suggesting that these domains may be the most impaired. All effect sizes (*d*) were in the same direction, suggesting worse performance in the patient group than in the healthy control group, see **Table 9.** Using the data obtained from the evaluation of the subtests in all euthymic patients, the patients were divided into two groups (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) and were statistically evaluated. The analysis showed that there is no significant difference between the (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) groups, but there is a significant difference between the two groups comparing them with the healthy control group **($p < 0.001$).** As previously discussed, it was observed that the duration of the disease did not influence the results amog euthymic patients, as seen in **Table 10.**

Table 7: FAST total scale and the categories of functional impairment cut-offs

	Healthy Control N = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 YEARS n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 YEARS n= 25	p - Value
FAST score				p < 0.0001 *
0 - 11 No impairment	18	5	0	
12 - 20 Mild impairment	5	5	7	
21 - 40 Moderate impairment	2	15	14	
41 - 60 Severe impairment	0	0	4	

(FAST) Functioning Assessment Short Test *χ^2 test

χ^2 Test
p < 0.02

Table 8: FAB total scale and the categories of cognitive impairment cut-offs

	Healthy Control N = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 YEARS n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 YEARS n= 25	p - Value
FAB score				p < 0.01 [a]
18 - 15 No impairment	18	8	5	
14 - 11 Moderate impairment	7	13	14	
10 - 0 Severe impairment	0	4	6	

(FAB) Frontal Assessment Battery Test [a] χ^2 test

χ^2 Test p > 0.05

Table 9: Functionalities Assessed by the FAST Subtest in Total Euthymic Patients

FAST subtests	Healthy Control n = 25	Euthymic Patients n= 50	t	F	p - Value	d
1. Autonomy	1.20 (±1.76)	3.32 (± 2.54)	3.52	2.20	p < 0.001 ** [a]	-0.916
2. Occupational Functioning	0.96 (±1.10)	5.48 (± 4.02)	5.03	14.93	p < 0.001 ** [a]	-1.407
3. Cognitive Functioning	4.00 (±2.25)	7.92 (± 3.36)	4.37	2.63	p < 0.001 ** [a]	-1.152
4. Financial Issues	1.32 (±1.49)	2.96 (± 2.20)	2.19	1.82	p < 0.04 ** [a]	-0.565
5. Interpersonal Relationship	1.24 (±1.56)	5.44 (± 4.47)	4.55	6.90	p < 0.001 ** [a]	-1.250
6. Leisure Time	1.20 (±1.22)	2.62 (± 2.39)	2.96	3.31	p < 0.01 ** [a]	-0.790
FAST total score	9.80 (± 5.94)	20.63 (± 8.21)	6.34	3.24	P < 0.001 **	-1.663

Note. Means ± Standard Deviation (SD). FAST – Functioning Assessment Short Test. Analysis of FAST subtests scores by t-test (*t*) (F) for independent samples, *d* – Cohen's effect size. * p < 0.01 and ** p < 0.001.

Table 10: Functionalities Assessed by the FAST Subtest in Euthymic Patients with ≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease

FAST subtests	Healthy Control n = 25 (a)	Euthymic Patients BD ≤ 3 YEARS n= 25 (b)	Euthymic Patients BD ≥ 10 YEARS n= 25 (c)	p - Value	Post-hoc analysis	f_2
1. Autonomy	1.20 (±1.76)	3.32 (± 2.54)	3.16 (± 2.71)	p < 0.001 ** [a]	a < b a < c b = c	0.405
2. Occupational Functioning	0.96 (±1.10)	5.48 (± 4.02)	5.16 (± 4.53)	p < 0.001 ** [a]	a < b a < c b = c	0.579
3. Cognitive Functioning	4.00 (±2.25)	7.92 (± 3.36)	7.08 (± 3.95)	p < 0.001 ** [a]	a < b a < c b = c	0.515
4. Financial Issues	1.32 (±1.49)	2.96 (± 2.20)	2.48 (± 2.00)	p < 0.01 ** [a]	a < b a < c b = c	0.357
5. Interpersonal Relationship	1.24 (±1.56)	5.44 (± 4.47)	4.8 (± 3.76)	p < 0.001 ** [a]	a < b a < c b = c	0.529
6. Leisure Time	1.20 (±1.22)	2.62 (± 2.39)	2.80 (± 2.19)	p < 0.04 * [a]	a < b a < c b = c	0.354
FAST total score	9.80 (± 5.94)	20.63 (± 8.21)	27.80 (± 12.50)	P < 0.001 ** [a]	a < b a < c b = c	0.796

Note. Means ± standard deviation (SD). FAST – Functionality Assessment Short Test. n.s. – no significant [a] Kruskal-Wallis followed by Dunn's post hoc to FAB test. [*] indicate FAB scores significantly different between groups. * $p < 0.05$ ** $p < 0.001$. f_2 –the overall Cohen's effect size

3.2.6. Categories Scores of FAB test in Healthy Controls and Euthymic patients

Our results demonstrated that significant differences were found in three distinct domains analyzing the FAB test scores between the total euthymic patients (n=50), and the healthy control patients (n= 25). Specifically, patients showed a decrease in Conceptualization, Inhibitory Control, and Sensitivity to Interference domains ($p < 0.05$), suggesting that these domains may be the most impaired. All effect sizes (d) were in the same direction, suggesting worse performance in the patient group than in the healthy control group.

Thus, in this study, we observed that the impact of BD, even in patients during a euthymic phase, waspresent in their cognition functions **[71],** as seen in **Table 11.** Using the data obtained from the evaluation of the subtests in all euthymic patients, we divided the patients into two groups (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) and were statistically evaluated. The analysis showed that there is nosignificant difference between the ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease groups, but there is a significant difference between the group with ≥ 10 years of the disease and the healthy control group ($p < 0.05$). As previously discussed, itwas observed that the duration of the disease did not influence the results among euthymic patients, as seen in **Table 12**.

Table 11: Neurocognitive Functions Assessed by the FAB Subtest in Total Euthymic Patients

FAB subtests	Healthy Control n = 25	Euthymic Patients n= 50	t	F	p - Value	d
1. Similarities (Conceptualization)	1.84 (± 0.85)	1.34 (± 1.08)	2.01	1.61	$p < 0.04$ * a	0.514
2. Lexical Fluency (Mental flexibility)	2.72 (± 0.46)	2.50 (± 0.61)	1.58	1.79	$p > 0.05$ a	0.407
3. Motor Series (Motor programming)	2.92 (± 0.28)	2.64 (± 0.72)	1.86	6.79	$p > 0.05$ a	0.512
4. Conflicting Instruction (Sensitivity to interference)	2.92 (± 0.54)	2.56 (± 0.77)	2.53	7.58	$p < 0.01$ * a	0.806
5. Go-No Go Task (Inhibitory control)	2.32 (± 1.14)	1.52 (± 1.50)	2.45	1.62	$p < 0.02$ * a	0.626
6. Prehension Behaviour (Environmental autonomy)	2.96 (± 0.20)	2.80 (± 0.60)	1.28	9.18	$p > 0.05$ a	0.202
FAB total score	15.84 (± 1.55)	14.64 (± 2.48)	3.56	2.50	$p < 0.001$ ** a	0.938

Note. Means ± Standard Deviation (SD). FAB = Frontal Assessment Battery. Analysis of FAB subtests scores by t-test (t) (F) for independent samples, d = Cohen's effect size. * $p < 0.05$ ** $p < 0.001$.

Table 12: Neurocognitive Functions Assessed by the FAB Subtest in Euthymic Patients with ≤ 3 years and ≥ 10 years of disease

FAB subtests	Healthy Control n = 25 (a)	Euthymic Patients BD ≤ 3 YEARS n= 25 (b)	Euthymic Patients BD ≥ 10 YEARS n= 25 (c)	p - Value	Post-hoc analysis	f_2
1. Similarities (Conceptualization)	1.88 (± 0.88)	1.52 (± 1.15)	1.28 (± 1.02)	$p < 0.03$ * a	a ≈ b b ≈ c a > c	0.240
2. Lexical Fluency (Mental flexibility)	2.68 (± 0.47)	2.48 (± 0.58)	2.56 (± 0.65)	$p > 0.05$ a	n.s.	0.143
3. Motor Series (Motor programming)	2.92 (± 0.27)	2.84 (± 0.47)	2.48 (± 0.87)	$p < 0.02$ * a	a ≈ b b ≈ c a > c	0.323
4. Conflicting Instruction (Sensitivity to interference)	2.92 (± 0.27)	2.56 (± 0.77)	2.36 (± 0.95)	$p < 0.02$ * a	a ≈ b b ≈ c a > c	0.331
5. Go-No Go Task (Inhibitory control)	2.32 (± 1.14)	1.52 (± 1.50)	1.60 (± 1.41)	$p < 0.05$ * a	a ≈ b b ≈ c a > c	0.299
6. Prehension Behaviour (Environmental autonomy)	2.96 (± 0.20)	2.84 (± 0.47)	2.76 (± 0.72)	$p > 0.05$ a	n.s.	0.274
FAB total score	15.84 (± 1.55)	14.64 (± 2.48)	12.44 (± 2.78)	$p < 0.001$ ** a	a ≈ b b > c a > c	0.8042

Note. Means ± standard deviation (SD). FAB = Frontal Assessment Battery. n.s. = no significant a Kruskal-Wallis followed by Dunn's post hoc to FAB test. * $p < 0.05$ ** $p < 0.001$. f_2 =the overall Cohen's effect size

3.3. Correlation between FAST and FAB tests scores in euthymic patients

Fig. 8 displays the impact of cognitive function (FAB test) of euthymic patients on functionality (FAST test). Thecorrelation between frontal cognition and functionality was analyzed through the scores of the FAB and the FASTtests in euthymic and healthy control patients, using the Spearman Correlation Coefficient. Although only a small number of samples of euthymic patients were used (n=50) and healthy control (n=25), it was possible to observe a negative Spearman Correlation Coefficient, after assessing normality using the Shapiro-Wilk test. The correlation presented a moderate intensity **(r^2 = -0.539)** to euthymic patients and a very weak correlation in healthy control **(r^2= -0.106).** This correlation between the variables FAB and FAST, demonstrated that euthymic patients who have lower scores on the FAB (decreased frontal activities and EF), had demonstrated that euthymic patients who have lower scores on the FAB (decreased frontal activities and EF), had higher scores on the FAST (with greater loss of functionality). Since **r^2= -0.539**, it represents a moderate correlation, the FAB variable alone is not able to explain the total FAST variability. However, the sample results providesignificant statistical evidence between FAB and FAST **(p < 0.0001).**Regarding the healthy control group, we did not find a significant correlation, **(p > 0.05).** Furthermore, it is important to remember that the correlation coefficient (r^2) isonly an estimate of the population correlation coefficient (p), and we should not forget that the value of r is calculated based on some data pairs constituting random samples. Often the points in the sample may show a correlation, even though the population does not, in this case, we are facing an inference problem, since $r \neq 0$ is not a guarantee that $p \neq 0$.

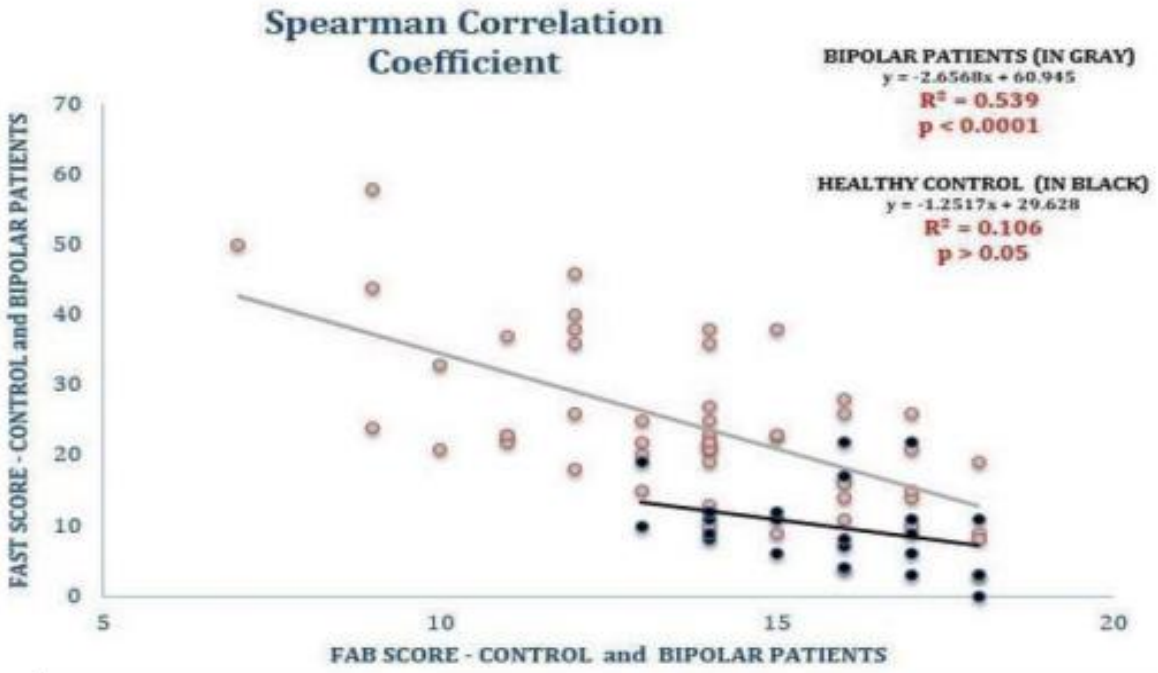


Fig. 8. **Correlation between FAST and FAB test scores in healthy control (n= 25) (in black) and euthymic patients (n=50) (in gray), using the Spearman Correlation Coefficient.**

The total group of euthymic patients was separated into twogroups (≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease), and later performed the Spearman correlation, where it was observedthat the same negative correlation trend remain edpresent, with (r^2= **0.226; p < 0.001**)in patients with ≤ 3 years of the disease and (r^2= **0.352**; p < **0.001**) in patients with ≥ 10 years of the disease.

These results reinforce previous results which the correlation between the variables FAB and FAST, demonstrated that euthymic patients who have lowerscores on the FAB test (decreased frontal activities and EF),had higher scores on the FAST (with greater loss of functionality), how as seen in **Fig. 9**.

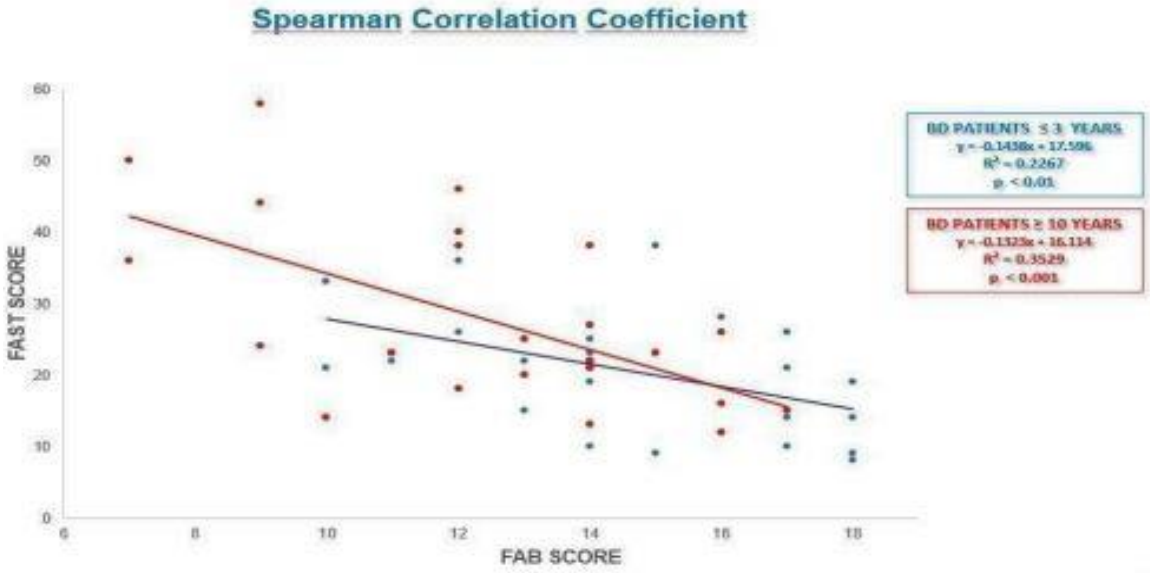


Fig.9. **Correlation between FAST and FAB test scores between BD patients ≤ 3 years (in red) and ≥ 10 years of disease (in blue), using the Spearman Correlation Coefficient.**

IV. DISCUSSION

Recently, our research group published an article on the assessment of impairment of functionality and executive functions in different domains, in 50 euthymic patients with BD I / II, using the FAST and FAB tests **[75].** In the present article, we evaluated 50 euthymic patients, but with different times of disease onset. A group (n =25) with ≤ 3 years of the disease and a group (n=25) with ≥ 10 years of the disease were evaluated. The current results found in this study were compared and discussed referring to previous research, and the results found were interesting, and produced a rich discussion. Initially, in thisresearch, we have tried to apply standardized strict criteria for euthymic and the control group. We wanted to reduce the biases related to this research, as much as possible. Thesafety measurements, criteria, and diagnosis of the disease,as well as the sample of bipolar patients who had been in the euthymic phase for at least six months, resulted in more accurate data. The rigor in the application of all the tests used by our highly trained staff eliminated any dubious interpretation or results of FAST and FAB. In a meta-analysis, Rocca and Lafer **[72],** showed that many previous studies had not expressed this concern with standardization,producing a considerable variability in the results found **[73].** Despite the meticulous application of the tests by the staff; some biases were still present, e.g., the small number of patients in each group, the heterogeneity of the population, their educational level, as well as the diversity of medications used by patients, which may produce different effects on cognition. Anotherrelevant point that was considered when analyzing the bipolar patients' cognitive abilities, was their age. Numerous age-related changes in cognitive abilities aresignificant to the everyday activities of the patients. According to Petersen **[74],** studiesof the neurophysiological processes on cognitive performance have shown that cognitive skills reach their maximum point at the age of 30 and remain stable until they start to decline between 50 and 60 years old. Many

studies demonstrated lower cognitive levels during aging **[76];[77];[78];[79].** This physiological decline in senescence is due to neuro-anatomical changes that cause adegradation of the brain structure. However, this decline incognitive functions is not uniform. Functions such as the ability to communicate through language, the use, and definition of words; evocation and knowledge of general culture; practical or social reasoning; remain stable during their lives. However, they have difficulties in understanding long and complicated phrases, quicklyforgetting specific names or terms, sometimes generating a more repetitive speech; difficulty in understanding organized and logical analysis of unfamiliar or abstract material. Performance in the planning, execution, and evaluation of complex scales of behavior and performance of new and fast perceptual-motor tasks, is also impaired **[74];[80];[75];[81];[82]**. For this reason, we only included patients with a maximum ageof 60 years old, trying to reduce any bias related to the cognitive test results, both in the natural and pathological aging process. By utilizing these strict criteria adopted for the inclusion ofbipolar patients in our study, we observed significant statistical results after the application of the FAST and FAB tests. The results obtained in all euthymic patients (n=50), **see Figs. 1-2** and **Table 3,** show some similaritiesin the subgroups (early (n=25) and late-onset (n=25) with ≤ 3 years and more than ≥ 10 years of the disease as shownin **Figs. 3-4** and **Table 4.** The same was observed for the different domains of the tests applied as shown in **Tables 9-10-11-12**. In the FAST test, we observeda significant decrease in the functional capacity of bipolar patients in alldomains, which made us realize the impact ofthe disease and the patients' daily lives. These results are related to previous studies in the literature, where several authors also observed the same results **[24];[83];[84]; [85];[67].** Furthermore, Bonnín et al. **[25],** evaluated a total of 32clinically and neuropsychologically euthymic bipolar patients at baseline. After a median follow-up of 4 years, they were interviewed with the FAST test to assess functional outcomes. They observed that depressive symptoms together with neurocognitive impairments were related to verbal memory and that EF were variables that functioned as predictors for long-term functional outcomesin BD. Our study observed a result that remained presentin all subtests of the FAST test when we compared the two groups of bipolar patients with different durations (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) and with the healthy control group. The two groups of euthymic patients showed a very significant difference from the control group in allsubtests, but there were no changes in the groups with different disease durations.

This data allowed us to raise thehypothesis that changes in functionality already occur since the onset of the disease, and continue over the subsequent years. Our results also corroborate with the present literature, where the subtests (autonomy, occupational functioning, cognitive functioning, and interpersonal relationship), seem to present the greatest impacts. In a recent categorical meta-analysis that included 11 other studies, with a total sample of 1083 patients, the prevalence of global functional impairment was 58.6%.Regarding specific domains, the meta-analysis showed a prevalence of impairment in the following domains: 65.6% in occupational, 49.2% in cognitive, 42.6% in autonomy, 42.1% in interpersonal relationships, 29.2% in leisure, and 28.8% in the field of financial issues - all of them statistically significant **[86].** Regarding the FAB test, and confirming one of our initial hypotheses, we observed a similar phenomenon. The FAB test performance in our study presented significantly worsescores in the following domains: similarities (conceptualization), conflicting instructions (sensitive to interference), and go/no-go (inhibitory control), which demonstrated a significant executive dysfunction in all (50) bipolar patients as shown in **Table 11.** However, whenwe divide these patients into two distinct groups with ≤ 3 years and ≥ 10 years after the onset of the disease, we can observe that a phenomenon is repeated in the analyzed data. The analyzed group with lessthan ≤ 3 years of disease, despite presenting lower mean values of scores in all domains compared to the control group, were not significant. However, when we compared the mean scores of the domains in patients with more than ≥10 years since the onset of the disease with the control group, we found a decrease in the FAST test scores in all domains,however, it was statistically significant in the following domains: similarities (conceptualization), conflicting instructions (sensitive to interference), go/no-go (inhibitory control)and motor series (motor programming) as shown in **Table 12**. These data reinforce the idea that the cognitiveloss occurs gradually through the years, raising the hypothesis that the impact of the disease already is observedat the beginning of the disease, with probable neuroanatomical and possibly biochemical alterations due tothe process of neuroinflammation and neuroprogression of the disease. Thus, our results as shown in **Table 11-12**, reinforce the idea that EF alterations have a significant impact on the daily functionality of these patients. Since fewstudies up to date used the FAB test for patients with BD, we found itdifficult to correlate our results with previous studies. For this purpose, we compared the results found in other studies, researching different psychiatric pathologies with altered EF, which also

observed similar results **[17];[18];[19].** However, our results differed from other studies that also evaluated the components of EF in euthymic patients with BD, and who performed poorly in mental flexibility, unlike our study **[88];[89];[90].** Furthermore, other domains such as inhibitory control **[91],**and conceptualization **[29];[90],** remained preserved in these studies, nevertheless were different from our results. Even so, our results are in line with previous studies demonstrating a substantial proportion of bipolar patients who experienced unfavorable general functioning, and present a significant degree of morbidity and dysfunction associated with BD, even during euthymic periods **[37];[92].**In another study on the relationship between cognitive and occupational function in euthymic patients, it was reported that, over six months, cognitive measures at the time of symptomatic recovery, particularly in the domains of working memory/attention and processing speed, were strongly associated with concurrent occupational recovery **[87].** These findings suggest that a decline in cognitive function over time may be accompanied by a functional decline in occupation despite the euthymic state of the patients. Data from two meta- analyses demonstrated that cognitive changes persist during euthymia; even though there is a variation in the results concerning the domains involved, and the effectsize produced **[93];[16]**. There are many discrepancies between authors regarding the performance in many different neuropsychological tests related to EF by bipolar patients. For example, patients in the manic phase may have difficulty adapting to conceptualchanges, as can be seen in the Trail Making Test, as well as, during the depressive phases, demonstrating that bipolar patients have a poorer performance especially in verbal fluency testswhen compared with unipolar patients. Also, inthe euthymic phase, changes in EF were observed with severalpersevering errors in the Wisconsin Card Sorting Test.Thus, using different tests, to assess the EF, it was observed that the degree of commitment and the size of the effect can be quite diverse between the various domains.In summary, different EF were not equally impaired in euthymic BD patients **[94];[95];[96].** It became significant in our research because we tried to evaluate the possible confounding variables that could interfere with the result found in the correlation between the FAB and FAST tests. A characteristic of the confounding variable is that it influences both the dependent and the independent variables, which can cause a spurious association. In our study, clinical variables such as (gender, age, length of illness), showed little effect on executive performance, except the study time, which showed some correlation with the FAB test as seen in **Fig. 10**, which will bediscussed next. As previously described, this research showed that therearesignificant differences in years of study between healthy control patients and euthymic patients as seen in **Table 1**. The average years of studies showed that the more the disease progresses, the shorter the study time. This data seems to reflect the impact of the disease on the cognitive functions of patients as seen in **Fig.3-4-7,** and consequently the functionality of the patients. When comparing the two groups (≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease) we can observe the permanence of statistical differences between them, as seen in **Table 4**, reinforcingthe hypothesis that the disease has a strong impact on the patient's life, since thebeginning. However, our study did not take into account some significant variables, as described by Shoeyen et al. **[97],** who observed that the main clinical variables that were significantly associated with lower levels of education in euthymic patients, were associated with: the age of the patient during his/her first episode, the number of rapid cycling, and who had more than four depressive episodes. To resolve this issue, our group is starting a new study where these variables reported above will be included and evaluated. Another point that was observed was the level of education between the groups. While the control group had the majority of subjects (60%) with graduate and postgraduate education, the euthymic patients with ≤ 3 years of the disease, presented a level of education up to high school and graduated (84%), and euthymic patients with ≥ 10 years of the disease, presented a level of education up to high school and primary school (66%). Our findings are similar, compared to a nationwide Danish register study **[98]**, reporting lower educational levels in BD compared tothe general population. In a survey that compared bipolar patients to a healthy control group, where IQ levels were similar, it was observed that patients with BD completed fewer years of education than controls. Although morethan 60% of both groups entered college, only 16% of bipolar patients received a university degree. In contrast, 47% of control patients completed college. Although the educational level did not differ between patients who started the disease earlier or later, nor due to substance abuse **[99].** Another research demonstrated that more education and shorter illness duration remained significantly associated with functional recovery. One more year of education was associated with a 1.45 times higher chance of functional recovery, and being ill one year longer was associated with a lower chance of functional recovery **[100].** More recently, Baune and Malhi, **[101],** observed a slightly different result, where patients with BD had the same level of education, however, had a significantly lower social and occupational function than the general population. Curiously, in our research, we also observed a shorter time concerning the

years of education in the bipolar patients, which produced a greater impact on occupational activities; as seen in **Table 1**. Thus, the level of education is interrupted due to crises during BD, and the reduction in the level of education may contribute to the later functional disabilityin this disease. Thus, many studies showed that there is an inverse correlation between the degree of education with the social, occupational function, and risk of disability **[102];[103];[104].** Also, other studies had shown that bipolar patients' household income was below 10%, and many of them were on disability pension in comparison with the general population, **[98];[105];[106].** Thus, our results are according to literature reinforcing the previous studies. Another variable related to cognitive functions and functionality is age. It was interesting to note that ourstudy did not observe an association between the loss of functionality (FAST), and cognitive functions (FAB), comparing the age of the patients, as can be seen in **Table 1-5; Figs. 5-4.** Although there was a difference in themean age between the groups of euthymic patients (≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease) which can be observed in **Table 1.** When we adopted a median (< 41 and ≥ 41 years old) by comparing the younger euthymic patients with the older ones, we did not observe any importantdifferences, which supports our hypothesis that it mightnot be the age of the subjects studied that will determinethe effect on the FAB or FAST tests, but most likely the time of having the disease. We know that many of the younger patients (< 41 years old) in our euthymic group have had the pathology for more than 10 to 15 years, whilemany older patients (≥ 41 years old) had recently been diagnosed with the disease; less than two or three years ago. Again we need to better clarify the issue of the impactof the number of crises of depression and mania on the evolution of the disease, by collecting more data, although it was not our initial intention. Thus, our partial results are supported by many authors in the literature that showed cognitive deficits, including EF, memory, and attention, and do not seem to be strictly a later effect caused by the years of the disease. Furthermore, it showed that young people who had a recent manifestation of BD, had cognitive deficits that resemble that of older patients, and these deficits can be observed even during euthymia **[107];[78];[108];[109].** Recently, in important research, Martino et al. **[110],** evaluated a sample of 51 euthymic bipolar patients, who were followed up for a mean period of 73 months. They suggested that the longitudinal trajectory of cognitive deficits in BD is relatively independent of the number of episodes or time spent ill, and there were no differences between these patient groupsin any clinical or neurocognitive variables at baseline. Also, Pavuluri et al. **[111],** followed pediatric patients withBD for 3 years. They observed that all neuropsychological profiles remained impaired, especially EF and verbal memory even though the patients were treated and in remission. In a meta-analysis of pediatric patients withBD, it was concluded that the effect sizes of the tests in thedifferent domains indicated greater deficits among the BD group, compared to the healthy controls, although theyvaried greatly in the effect size. i.e. verbal learning and memory (Z = 4.65, nine studies); EF (Z = 4.07, nine studies); and attention (Z = 3.81, eight studies) **[112].** However, our results differ from other researchers showingcontroversies in the literature about the cognitive impairment associated with BD. In a meta- analysis, Samamé et al. **[113],** described that bipolar patients' performance in 14 cognitive measures remained stable after a mean follow-up period of 4.62 years. When the meta-analysis was restricted to controlled studies, no patient-control differences were found regarding longitudinal cognitive outcomes. Also, Cacilhas et al. **[114],** found a significant correlation between age and functionality through the FAST test in BD patients. They demonstrated that BD was an important effect modifier on the natural age effects in general functioning, further characterizing BD as a chronic and impairing disease. We must remember that this study was conducted with a clinical sample (or prevalence sample), which might tendto overestimate the morbidity, cognitive deficits, and functionality of patients with BD. We included in our sample patients with less than two years and more than ten years of length of illness and with very different numbers ofprevious affective episodes. We must also point out that, in our work, we use BD I / II patients in the same group. However, meta-analyses indicate that people with BD II also have cognitive deficits in the same way, but slightly less severe than those seen in BD I **[115];[116].** Possibly, the results of our tests would have been different if we had categorized our population into two subgroups (type I and type II). Concern to the patients with BD I mayreflect greater severity of the disease symptoms, and therefore the effects of drugs such as mood stabilizers and antipsychotics, which are more commonly prescribed for BD I than II, andin larger doses, would produce iatrogeniceffects in their EF, as noted by Balanzá-Martínez et al. **[117],** and with greaterimpacts on verbal memory and processing speed as well. However, whether these discrepancies are partly related to the long-term treatment of these patients or not, is not yet fully understood. A study demonstrated that patients treatedwith antipsychotics had worse results in the Trail Making Test **[118].** However, in another study with a sample of 44 bipolar patients on monotherapy with lithium, it was foundthat changes in EF, especially in domains that required inhibitory control, were independently related to the severity of symptoms and the medication used **[119].** Also, another longitudinal research with a sample of 15 euthymic patients treated with lithium monotherapy, were assessed for cognitive impairment twice

over a 2-year follow-up. Repeated measures showed that the euthymic group was cognitively impaired in EF, which was the mainlong-term neuropsychological deficit of BD, though it did not worsen over 2 years. Furthermore, the results showed that the persistence of these cognitive deficits did not appear to be influenced by any clinical or pharmacological variable,remaining stable over time **[102].** A possible alternative hypothesis of our findings is that the common cause of cognitive deficits and adverse clinical course is determined by some pathophysiological alteration (i.e. neurodevelopmental abnormalities) underlying different subgroups of patients with BD. This hypothesis is supported by the involvement of the prefrontal cortex and prefrontal– subcortical pathways, which regulate both mood state and cognitive functioning, and might predispose to a greater magnitude of cognitive deficits and frequency of episodes **[120];[121].** In contrast, another subgroup of patients without such factors might have relatively preserved cognitive functioning and a lower number of affective episodes. **[122];[123];[124];[125].** To better relate the meanings of these clinical and cognitive changes reflected in the FAB test, we needed to initially discuss and relate the neuroanatomical and pathophysiological changes with the results found. Several studies are linking the impact of different psychiatric illnesses on brain functioning, and its architecture **[126];[127];[128].** Research has shown that BDpresents a cyclical and recurrent course. More recently, pathophysiological changes in the brain have been observed, raising the hypothesis that this is a progressive, chronic and disabling disease. The concept of neuroprogression appears to explain this phenomenon, but this concept is still surrounded by controversy **[128];[129];[8];[9].** However, if there is an increase in the allostatic load, it produces a cumulative physiological dysregulation related to the dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, altering immunity, thereby activating pro-inflammatory mechanisms with subsequent activation of oxidative stress states **[130].** With this sequence of phenomena, an inflammatory environment is created, inducing a significant risk of cognitive decline **[131];[132];[133];[134].** As previously reported, all these events involve a pathologicalreorganization in the brain, and therefore, are associated with morphological modifications, such as the volume reduction in the cortex and white matter of the prefrontal cortex **[135];[136];[137];[138];[139].** These prefrontal cortex alterations are possibly secondary to multiple episodes of mania and depression during their lives. In addition to thesemultiple episodes, the number of hospitalizations and disease duration in bipolar patients might cause changes in their neurocognitive performance, with an impact on their daily functionality and psychosocial aspects **[4];[5];[6];[140].** These structural alterations in the prefrontal cortex, produce cognitive deficits associated withan inferior functional state, similar to what occurs to some neurological patients, indicating that some of the functionalimpairments frequently reported by BD patients, may be due to cognitiveimpairment, which may be a vulnerability factor for BD, and can present itself before the onset of the disease and worsen with the progression of the same **[141].** The prefrontal cortex is a heterogeneous region that comprises several specialized sub-regions, in which EFrepresents only one functional category within the lobes **[142].** This isa region that communicates with the entire brain, receiving and sending projections of all types. It integrates with the limbic system, reticular system, hypothalamus, and neurotransmitter systems **[143],** involving the amygdala,the dorsolateral prefrontal cortex, insula, and anterior cingulate areas **[144];[145];[146];[147];[128];[139].** Through neuroimaging, had been possible the comprehension of the neural structure and function underlying cognitive processes and it was possible to differentiate the areas of the prefrontal cortex responsiblefor the different components of EF, with three main regions:the orbitofrontal, the ventromedial, and the dorsolateral region. The orbitofrontal region projects into the *caudate nucleus* and is responsible for the inhibition capacity. An injury is characterized by personality change, including behavioral disinhibition and emotional lability. The ventromedial region begins in the anterior cingulate cortex and projects to the *nucleus accumbens*, mediating motivational behavior. An injury is associated with a decrease in motivation, causing apathy, indifference to pain, lack of motor and psychic initiative. The dorsolateral region projects into the *caudate nucleus*. Usually, this region is associated with components of EF, namely verbalfluency, cognitive flexibility, planning, decision making, inhibitory control, working memory, reasoning, problem- solving andabstract thinking. An injury in this area, leads to the inability to maintain attention, persevering thoughts, impaired reasoning as well as deficits in mental flexibility **[148];[149];[150];[151].** The same authors observed thatthe neuropsychiatric manifestations are related to neurocircuitry defects. Impaired EF, impulsivity, and apathy, are characteristics of frontal-subcortical circuit dysfunctions, and neuropsychiatric disorders, such as attention- deficit/hyperactivity disorder, obsessive-compulsive disorder, schizophrenia, and also BD might result from compromised integrity and functioning of these areas and rojections. Recently, several researchers have sought to relate the six domains present in the FAB test, with different neural networks, demonstrated in **Table 13. [54];[152];[153];[154];[155];[156]; [157].**

In this study, the anatomical lesions were correlated with all the FAB subtests. Executive dysfunctions and impairment in working memory are related to lesions in the prefrontal dorsolateral cortex. Abulia and apathy are related to lesions of the ventromedial cortex, and disinhibition and mood disorders are related to the orbitofrontal cortex. When applied to the FAB subtest, the conceptualization was more related to the dorsolateral region. The results of the conflicting instructions, and go-no-go subtests, were related to the ventromedial and orbitofrontal cortex respectively. These results found in our work are fascinating because each different region of the prefrontal cortex showed an altered subtest as seen in **Table 13**. Also,a large number of these symptoms described above are observed daily during the care of bipolar patients, mainly during manic and depressive phases. However, the bipolar patients in our study were more than six months in euthymia. Even so, the results showed us significant losses in all functionality domains, as well as in some cognitive domains found mainly in EF as seen in **Table 10-12.** Some cognitive impairments persist even after remission of the symptoms, and many studies have shown that they are neuropsychologically related, at least in part, to the psychosocial difficulties of these patients **[91];[88];[158].**

On the contrary, there is little data in the literature about the use of the FAB test in bipolar patients, and it is difficult to correlate this data with the anatomical lesions analyzed. Therefore, further studies using the FAB test are necessary, to better comprehend these results.

It is important to note that changes in the connections between the involved structures are critical in the emotional dysregulation and cognitive functions in BD. Researchers observed that someabnormalities in some components of these neural systems are more apparent in adolescence, while other prefrontal regions appear to progress more in young adulthood, suggesting a neurological development model for this disorder **[159];[160];[37];[138];[109].**

Although BD is related to cognitive deficits, these deficits do not appear to be universal. It is estimated that about 30% of BD patients in remission will have levels of cognitive performance within the normal range **[161];[162].** Also, longitudinal studies have shown thatfluctuations in mood states do not seem to explain many ofthe cognitive deficits during euthymia **[163];[164].** Thus, it becomes imperative to define whether the cognitive impairment presented during euthymia, precedes the onset of the disease, that leads to the hypothesis of alterations in the neurological development, or whether it results from the negative impact of BD on cognition that corroborates the theory of neurodegenerative process (neuroprogression). Some researchers believe in the coexistence of the two hypotheses. From a neuropsychological point of view, longitudinal studies that last more than one year, are practically non-existent, which makes it challenging to confirm the cognitive impairment and determine whether it is stable or progressive **[165];[166];[35];[167];[8];[9].** One of the longer longitudinal studies with bipolar patients was performedby Santos et al. **[83]** which assessed the performance of 80 euthymic outpatients, using a group of neuropsychological

Table 13: Prefrontal cortex regions, projections, behavioral mediation and injury, correlate to different domains assessed by the FAB test in Bipolar Patients and their respective level of significance.

PREFRONTAL CORTEX REGIONS	PROJECTIONS	BEHAVIORAL MEDIATION	FAB TEST CORRELATION	*p* – value of FAB subtests	INJURY
Orbitofrontal	Caudate Nucleus	Inhibition Capacity	Go-No Go Task (Inhibitory control)	$p < 0.05$ *	Behavioral Disinhibition and Emotional Lability
			Prehension Behaviour (Environmental autonomy)	$p > 0.05$	
Ventromedial	Accumbens Nucleus	Motivational Behaviour	Conflicting Instruction (Sensitivity to interference)	$p < 0.02$ *	Apathy Abulia
Dorsolateral	Caudate Nucleus Basal Ganglia	Executive Functions	Similarities (Conceptualization)	$p < 0.03$ *	Verbal Fluency Cognitive Flexibility Planning Decision Making Inhibitory Control Problem-Solving Abstract Thinking
			Lexical Fluency (Mental flexibility)	$p > 0.05$	
			Motor Series (Motor programming)	$p < 0.02$ *	
Dorsolateral	Hippocampus	Memory	not valued	–	Working Memory

tests and demonstrated that cognitivedeficits in BD were stable during a follow-up after five years, except in verbal memory, showing that the clinical course during a second follow-up period (longer than 5 years), did not influence the course of cognitive dysfunction. Our research confirmed this same hypothesis raised by the authors above. The changes that occurred both in the functional and cognitive functions showed slight differences in the means of the FAB and FAST tests between the groups of ≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease. However, there was a significant difference between control patients and the group that developed the disease more recently. This phenomenon reinforces the ideathat the clinical course of the disease did not influence the course in the functionality and cognitive dysfunctions. Another important studyconducted by Mora et al. **[104],** which followed up a groupof euthymic bipolar patients by 6 years, and evaluated the functionality through the FAST test, observed that among the clinical factors, longer illnessdurations were significantly related to slow processing, whereas strong relationships were observed between impoverished cognition and poorer psychosocial functioning over time. Although cognitive deficits remainedstable on average throughout the follow-up, they had enduring negative effects on the psychosocial adaptation ofthe patients. Thus, we can hypothesize that patients with greater cognitive impairment are less able to maintain the treatment of their disease, stopping the use of medications, the clinical and psychotherapeutic follow-up frequently,andas a result, they suffer a worse course of the disease. However, the presence of subtle deficits in cognitive functions provides an indication that cognitive impairment may represent a trace of vulnerability factors in the development of BD that is present before the onset of the disease, but worsens as the disease progresses. Thus, BD is characterized by remarkable heterogeneity regarding cognitive outcomes and probably different potential clinicalpredictors may be related to such outcomes, i.e., previous mixed episodes, current subclinical depressive symptoms, previous hospitalizations, and old age, and should be the focus of treatment **[88];[35];[168];[169];167];[170];[171];[172].** Also, many other studies have shown that euthymic patients continue to have difficulties at work and in their studies, showing low performance or difficulty in maintaining them, although it is less evident, as shown also by our research **[173];[115];[127];[174].** Finally, one of the main objectives of this article was to correlate whether the data on cognitive deficits observed ineuthymic patients can help explain functional deficits.

Therefore, we attempt to evaluate the clinical capability of the FAB test in bipolar patients. Studies have shown that the FAB test may have a good capability to discriminate several conditions in different clinical populations, although the evidence is still incipient and scarce in psychiatric disorders, and the results should be interpreted with caution. After performing the Spearman Correlation Coefficient Test, by comparing the FAST and FAB test scores in euthymic patients, our group was able to observe a moderate negative correlation, $\mathbf{r^2 = -0.53; p < 0.001}$. This result represents that 53% of the variation of the FAST test (functionality) is linearly related to the FAB test (cognitionand EF), and the remaining 47% of the variation are resulting from other factors that were not considered inthis study, like (duration of illness, time of hospitalization, number of manic or depressive episodes, among others). These results are following the literature we studied. Whenthe total group of euthymic patients (n=50) was divided into patients with ≤ 3 years and ≥ 10 years of disease, we observed that the same negative correlation trend was present. However, the values of the Spearman's correlationin both subgroups were lower, seen in the euthymic group with ≤ 3 years ($\mathbf{r^2 = 0.226; p < 0.01}$), and the euthymic group with ≥ 10 years of disease ($\mathbf{r^2 = 0.352; p < 0.001}$) demonstrated in **Fig. 9.** Thus, we can infer two important aspects of this correlation; 1) the disease begins to show cognitive and functional changes from the onset of the first clinical symptoms of patients, even in euthymia for more than 6 months, and 2) the impact of the disease in the earlystage is a little less than in patients with ≥ 10 years of the disease, demonstrating that the disease progresses over time, and therefore reinforcing the hypothesis of its neuroprogression. These results are very significant and they are in accordance with other studies. In a systematic review of 52 studies, cognitive deficits were strongly associated with poor functioning in BD, both in cross-sectional and longitudinal studies **[175].** In a meta-analysis, Depp et al., **[127]** also observed the same correlation between cognitive deficits and functional impairment. The effects did not appear to be modifiedeither by the clinical status, or the age or design of the study. As already reported above, these cognitive deficits tend to become stable over time **[113];[83].** However, a small subset of patients showed a decline over time incognitive functions as demonstrated by Mora et al. **[104],** after following a group of patients for 6 years. Furthermore, the strength of the correlation between cognition and the functional outcome depends on the tests used. Baune et al. **[176],** noticed minor effects when using the Global Functioning Assessment (GAF) Test. In a meta-analysis, Depp et al. **[127],** observed an overall mean correlation of $r^2 = 0.27$, $p < 0.001$, and all of these previous studies corroborate our results.

As stated previously, studies on BD patients have hown that the predictors of cognitive impairment functioning, assessed by FAST, were subclinical depressive symptoms, and previous mixed episodes were strongly associated. These results support the evidence that the significant morbidity and severe clinical course of BD lead to greater cognitive impairments with long-term consequences. Several researchers have demonstrated an apparent linear relationship between the increase in depressive symptoms and functional impairments, even during subsyndromal depressive conditions, which would increase the likelihoodof depressive relapses. This is due to a stabilization meantime for bipolar depression, which is 24 weeks, while patients with mania need 11 weeks, and patients with mixed cycling episodes need 40 weeks **[176];[177];[178];[179]; [167];[170];[172]**. Rosa et al. **[24]** concluded the sameresults, indicating that depressive symptoms are associated with a greater negative impact onpsychosocial functioning than manic (hypo) symptoms. Other deficits in functioning seem to persist even during remission. These results showedthe importance of treating depression and mania early, and the need to develop psychosocial interventions to improve functional results. The use of traditional psychopharmacology associated with psychoeducation allowed the remission of the processing speed, of the clinical symptoms to remain stable for more extended periods, which is an achievable goal for many BD patients. However, it is no longer just about improving the patients or their remitting symptoms; but mostly to improve their recovery. Unfortunately, studies showed that psychoeducation did not alter neurocognitive functioning on a neuropsychological battery test when compared with treatment as usual or cognitive behavioral therapy in altering dysfunctional negative beliefs **[180];[181];[182];[183];[67]**.

Although our patients were participating in a psychoeducation group for more than two years, we observed similar results in our study, with many significant alterations in the cognitive and functional domains. Thus, mood stability must come with the improvement of the memory, and the EF, in addition to better psychosocial, interpersonal, and occupational functioning. These are fundamental objectives to be achieved.

Table 13: Prefrontal cortex regions, projections, behavioral mediation and injury, correlate to different domains assessed by the FAB test in Bipolar Patients and their respective level of significance.

PREFRONTAL CORTEX REGIONS	PROJECTIONS	BEHAVIORAL MEDIATION	FAB TEST CORRELATION	p – value of FAB subtests	INJURY
Orbitofrontal	Caudate Nucleus	Inhibition Capacity	Go-No Go Task (Inhibitory control)	$p < 0.05$ *	Behavioral Disinhibition and Emotional Lability
			Prehension Behaviour (Environmental autonomy)	$p > 0.05$	
Ventromedial	Accumbens Nucleus	Motivational Behaviour	Conflicting Instruction (Sensitivity to interference)	$p < 0.02$ *	Apathy Abulia
Dorsolateral	Caudate Nucleus Basal Ganglia	Executive Functions	Similarities (Conceptualization)	$p < 0.03$ *	Verbal Fluency Cognitive Flexibility Planning Decision Making Inhibitory Control Problem-Solving Abstract Thinking
			Lexical Fluency (Mental flexibility)	$p > 0.05$	
			Motor Series (Motor programming)	$p < 0.02$ *	
Dorsolateral	Hippocampus	Memory	not valued	–	Working Memory

V. CONCLUSION

Studying the relationship between neurocognition and functionality, it was possible to extract a set of significant findings. On the one hand, the results obtained from the multidimensional tests of neurocognition, and functionalityused from a hetero assessment (FAST and FAB) tests, suggest that the distinction between the different domains of these tests can be useful in euthymic

bipolar patients. Also, the results allow us to consider that executive performance plays a central role, not only as a predictor of functional performance, but also as a mediator of the relationship between clinical factors, such as chronicity, and functioning. The possibility of using neuropsychological measures of neurocognitive tasks and functionality, and to assess possible subgroups of bipolar patients, as we did in this research using patients with ≤ 3 years and ≥ 10 years ofthe disease, we can now better understand the relationshipsbetween performance which can contribute so that patients can benefit from psychoeducation programs, and functionalrehabilitation, ultimately producing the creation of intervention plans thatsupport the recovery of people with BD.

As far as we know, this is one of the first studies that used the FAB test to assess the influence of various demographic and clinical variables, related to executive dysfunctions in BD. Although we adopted relatively strict inclusion criteria in our study, we recognize that our results should be evaluated with caution due to several limitations, which mainly derived from the administered neuropsychological tests, the sample size, and the cross- sectional design of the study. However, the limitations of the FAB and FAST tests, as well as the sample size, were partially resolved through the inclusion of a healthy control group, and the statistical evaluation regarding the sample sizes. Besides the above mentioned, there is alsothe clinical heterogeneity of the sample, which included patients with short- and long-term illnesses, who had different levels of education and age, which interfered in the analyzes. Another limitation was our cross-sectional design, where the data did not allow the analysis of the cause-and-effect relationship, and also studying many variables and their different areas of functioning. Regarding the FAST test, we did not control factors that could affect functional outcomes such as psychosocial interventions, familiar support, housing, and financial resources. The last weakness of our work is the lack of a deeper analysis regarding the impact of the treatments and medications used. As these patients have a chronic disease,they have had several previous treatments that may be related to current cognitive and functional deficits. This will be evaluated in future research that is already being planned. Thus, a larger sample can improve the performance of the FAB test, in addition to a better division into more clinically defined subgroups and a better control of some variables. Furthermore, our group started anew study with bipolar patients who had earlyand late-onset of the disease, and we are trying to assessthe functionality and cognitive impairment of these patient groups, continuing to include and control more variables.

However, the so-called euthymia in the BD does not mean full recovery of the patient, and this was very clear in our group during this study. Most of our bipolar patients participated in a psychoeducation program for more than 2 years, and all were outpatients with more than 6 months of euthymia.

Therefore, we expected a better response to the FAST and FAB test scores compared to what was observed in other studies. However, the present study revealed that the data of our euthymic patients showed similar deficits in specific cognitive components, and thesewere associated with all domains of the FAST test, showing similar resultswith the literature.Despite the clinical interest, there is a gap in terms of studiesof the FAB test in bipolar patients, impairing the assessmentas reliability and as validity that can correspond clinically. Although the FAB test shows some limitations, there is some evidence to suggest that several FAB test domains may have good predictions. In terms of clinical practice, early and differential diagnoses are crucial elements in determining the appropriate treatments and therapies. In thissense, the FAB subscores can offer useful information to increase the accuracy of the diagnosis, which can also be of considerable importance during advanced stages in which the progression of the disease intensifies executive dysfunctions. The total performance of the FAB test can be used as a marker of severe disease, rather than a single screening test. Furthermore, we can evaluate the effectiveness of neuropsychological rehabilitation programs in future studies, measuring the results and the qualitative analysis of their performance, and also associate the impairments observed in cognitive functioning with possible brain dysfunctions. Following these strategies, it isnecessary to promote functional recovery, which in many cases is not achieved through the available treatments today,which focus mainly on stabilizing mood episodes and preventing possible relapses. So far, there is no specific therapy or approaches to prevent the onset of this disorder or to treatit at the beginning of the disease. Many techniques have been developed to improve cognition in neuropsychiatric diseases. However, more recently, newapproaches, such as functional remediation and dialectical behavior therapy (DBT), have been used. These techniquescover psychosocial aspects and regulations of emotions **[184];[185];[186]**. Functional remediation seeks to improve aspects related to work, functional and interpersonal skills, increasing autonomy, and reducing financial dependence. On the other hand, the core of DBT is to help people build four essential skills: mindfulness, distress tolerance, interpersonal effectiveness, and emotional regulation. Recently these new approaches have been used to treat patients with BD **[187];[188];[189];[190].** Thus, through this research, our group aims to select patients for a future study about DBT, allowing them to

develop new behaviors and skills. Thus, we aim to prevent and minimize the impact of any deficits found in their daily lives through cognitive training, and thus, promote their future reintegration into the community, improving their quality of life and reducing health expenses through the prevention of relapses.

REFERENCES

[1] Plana-Ripoll, O., Pedersen, C. B., Agerbo, E., Holtz, Y., Erlangsen, A., Canudas-Romo, V., ... & Laursen, T. M. (2019). A comprehensive analysis of mortality-related health metrics associated with mental disorders: a nationwide, register-based cohort study. *TheLancet*, *394*(10211), 1827-1835. https://doi.org/10.1016/s0140-6736

[2] Clemente, A. S., Diniz, B. S., Nicolato, R., Kapczinski, F. P., Soares, J. C., Firmo, J. O., & Castro-Costa, É. (2015). Bipolar disorder prevalence: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *37*(2), 155-161. https://doi:10.1590/1516-4446-2012-1693

[3] Sigitova, E., Fišar, Z., Hroudová, J., Cikánková, T., & Raboch, J. (2017). Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder. *Psychiatry and clinicalneurosciences*, *71*(2), 77-103. https://doi.org/10.1111/pcn.12476

[4] McEwen, B. S., & Gianaros, P. J. (2011). Stress-and allostasis-induced brain plasticity. *Annual review of medicine*, *62*, 431-445.https://doi:10.1146/annurev-med-052209-100430

[5] Grande, I., Magalhães, P. V., Kunz, M., Vieta, E., & Kapczinski, F. (2012). Mediators of allostasis andsystemic toxicity in bipolar disorder. *Physiology & behavior*, *106*(1), 46-50. http://doi:10.1016/j.physbeh.2011.10.029

[6] Fagiolini, A., Forgione, R., Maccari, M., Cuomo, A., Morana, B., Dell'Osso, M. C., ... & Rossi, A. (2013). Prevalence, chronicity, burden and borders of bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *148*(2-3), 161-169. https://doi:10.1016/j.jad.2013.02.001.

[7] Passos, I. C., Mwangi, B., Vieta, E., Berk, M., & Kapczinski, F. (2016). Areas of controversy in neuroprogression in bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*,*134*(2),91-103. https://doi.org/10.1111/acps.12581

[8] Post, R. M. (2020). How to prevent the malignant progression of bipolar disorder. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 42(5), 552-557. https://doi.org/10.1590/1516-4446-2020-0874

[9] Serafini, G., Pardini, M., Monacelli, F., Orso, B., Girtler, N., Brugnolo, A., ... & Nobili, F. (2021). Neuroprogression as an Illness Trajectory in Bipolar Disorder: A Selective Review of the Current Literature. *Brain Sciences*, 11(2), 276. https://doi.org/10.3390/brainsci11020276

[10] Blair, C., Zelazo, P. D., & Greenberg, M. T. (2005). The measurement of executive function in early childhood.*Developmental neuropsychology*, *28*(2), 561-571. https://dx.doi.org/10.1207/s15326942dn2802_1

[11] Goldstein, S., Naglieri, J. A., Princiotta, D., & Otero, T.I (2014). A history of executive functioning as a theoretical a clinical construct. *Handbook of Executive Functioning. N York: Springer New York.* https://doi.org/10.1007/978-1-461 8106-5_1

[12] Miyake, A., Friedman, N. P., Emerson, M. J., Witzki, A.I Howerter, A., & Wager, T. D. (2000). The unity anddiversity executive functions and their contributions tocomplex "fron lobe" tasks: A latent variableanalysis.*Cognitive psycholo 41*(1), 49-100. https://doi.org/10.1006/cogp.1999.0734

[13] Thompson, J. M., Gallagher, P., Hughes, J. H., Watson, S., Gray, J. M., Ferrier, I. N., & Young, A. H. (2005). Neurocognitive impairment in euthymic patients with bipolar affective disorder. *The British Journal of Psychiatry*,*186*(1),32-40. https://doi:10.1192/bjp.186.1.32

[14] Bora, E., Vahip, S., Akdeniz, F., İlerisoy, H., Aldemir, E.,& Alkan, M. (2008). Executive and verbal working memory dysfunction in first-degree relatives of patients with bipolar disorder. *Psychiatry Research*, *161*(3), 318- 324. https://doi:10.1016 / j.psychres.2007.09.002

[15] Diamond, A. (2013). Executive functions. *Annual reviewof psychology*, *64*, 135-168. https://doi.org/10.1146/annurev-psych-113011-143750

[16] Bourne, C., Aydemir, Ö., Balanzá-Martínez, V., Bora, E., Brissos, S., Cavanagh, J. T. O.,.....& Goodwin, G. M. (2013). Neuropsychological testing of cognitive impairment in euthymic bipolar disorder: an individual patient data meta-analysis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *128*(3), 149-162. https://doi.org/10.1111/acps.12133

[17] Cunha, P. J., Nicastri, S., de Andrade, A. G., & Bolla, K. I. (2010). The frontal assessment battery (FAB) reveals neurocognitive dysfunction in substance-dependent individuals in distinct executive domains: Abstract reasoning, motor programming, and cognitive flexibility. *Adictive behaviors*, *35*(10), 875-881. https://doi.org/10. 1016/j.addbeh.2010.05.005

[18] Fontes, M. A., Bolla, K. I., Cunha, P. J., Almeida, P. P., Jungerman, F., Laranjeira, R. R., ... & Lacerda, A. L. (2011). Frontal Assessment Battery (FAB) is a simpletool for detecting executive deficits in chronic cannabis users. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, *33*(5), 523-531. https://doi.org/10. 1080/13803395.2010.535505

[19] Orellana, G., & Slachevsky, A. (2013). Executive functioning in schizophrenia. Frontiers in Psychiatry, 4, 35.https://doi.org/10.3389/fpsyt.2013.00035

[20] Martínez-Arán, A., Vieta, E., Colom, F., Reinares, M., Benabarre, A., Torrent, C., ... & Salamero, M. (2002a). Neuropsychological performance in depressed and euthymic bipolar patients. *Neuropsychobiology*, *46* (Suppl. 1), 16-21. https://doi.org/10.1159/000068016

[21] Martínez-Arán, A., Vieta, E., Torrent, C., Sanchez- Moreno, J., Goikolea, J. M., Salamero, M., ... & Ayuso- Mateos, J. L. (2007). Functional outcome in bipolar disorder: the role of clinical and cognitive factors. *Bipolardisorders*, *9*(1-2), 103-113. https://doi:10.1111/j.1399-5618.2007.00327.x.

[22] Tabarés-Seisdedos, R., Balanzá-Martínez, V., Sánchez-Moreno, J., Martinez-Aran, A., Salazar-Fraile, J., Selva-Vera, G., ... & Vieta, E. (2008). Neurocognitive andclinical predictors of functional outocome in patients with schizophrenia and bipolar I disorder at one-year follow-up. *Journal of affective disorders*, *109*(3), 286-299. https://doi.org/10.1016/j.jad.2007.12.234.

[23] Martino, D. J., Marengo, E., Igoa, A., Scápola, M., Ais, E. D., Perinot, L., & Strejilevich, S. A. (2009). Neurocognitive and symptomatic predictors of functional outcome in bipolar disorders: a prospective 1 year follow-up study. *Journal of affective disorders*, *116*(1-2), 37-42. https://doi:10.1016/j.jad.2008.10.023

[24] Rosa, A. R., Reinares, M., Michalak, E. E., Bonnin, C. M., Sole, B., Franco, C., ... & Vieta, E. (2010). Functional impairment and disability across mood states in bipolar disorder. *Value in health*, *13*(8), 984-988. https://doi.org/10.1111/j.1524-4733.2010.00768.x.

[25] Bonnín, C. M., Martínez-Arán, A., Torrent, C., Pacchiarotti, I., Rosa, A. R., Franco, C., & Vieta, E. (2010). Clinical and neurocognitive predictors of functional outcome in bipolar euthymic patients: a long-term, follow-up study. *Journal of affective disorders*, *121*(1-2), 156-160. https://doi:10.1016/j.jad.2009.05.014.

[26] Gitlin, M. J., Mintz, J., Sokolski, K., Hammen, C., & Altshuler, L. L. (2011). Subsyndromal depressive symptoms after symptomatic recovery from mania are associated with delayed functional recovery. *The Journal of clinical psychiatry*, *72*(5), 692-697. https://doi.org/10.4088/JCP.09m05291gre

[27] Bonnín, C. M., Sanchez-Moreno, J., Martinez-Aran, A., Sole, B., Reinares, M., Rosa, A. R., ... & Torrent, C. (2012). Subthreshold symptoms in bipolar disorder: impact on neurocognition, quality of life and disability. *Journal of affective disorders*, *136*(3), 650-659. https://doi.org/10.1016/j.jad. 2011.10.012.

[28] Lewandowski, K. E., Cohen, B. M., Keshavan, M. S., Sperry, S. H., & Öngür, D. (2013). Neuropsychological functioning predicts community outcomes in affective and non-affective psychoses: a 6-month follow- up. *Schizophrenia research*, *148*(1-3), 34-37. https://doi.org/10.1016 / j.schres.2013.05.012

[29] Savitz, J., Solms, M., & Ramesar, R. (2005). Neuropsychological dysfunction in bipolar affective disorder: a critical opinion. *Bipolar disorders*, *7*(3), 216-235. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2005.00203.x

[30] Robinson, L. J., & Nicol Ferrier, I. (2006). Evolution of cognitive impairment in bipolar disorder: a systematic review of cross-sectional evidence. *Bipolar disorders*, *8*(2), 103-116. https://doi:10.1111/j.1399-5618.2006.00277.x.

[31] Mur, M., Portella, M. J., Martinez-Aran, A., Pifarre, J., & Vieta, E. (2009). Influence of clinical and neuropsychological variables on the psychosocial and occupational outcome of remitted bipolar patients. *Psychopathology*, *42*(3), 148-156. https://doi.org/10.1159/000207456

[32] Gitlin, M. J., Swendsen, J., Heller, T. L., & Hammen, C. (1995). Relapse and impairment in bipolar disorder. *The Americanjournalofpsychiatry*. https://doi.org/10.1176/ajp.152.11.1635

[33] Tohen, M., Zarate Jr, C. A., Hennen, J., Khalsa, H. M. K., Strakowski, S. M., Gebre-Medhin, P., & Baldessarini, R. J. (2003). The McLean-Harvard first-episode mania study: prediction of recovery and first recurrence. *American Journal of Psychiatry*, *160*(12), 2099-2107. https://doi:10.1176/appi.ajp.160.12.2099.

[34] Goetz, I., Tohen, M., Reed, C., Lorenzo, M., Vieta, E., & EMBLEM Advisory Board. (2007). Functional impairment in patients with mania: baseline results of the EMBLEM study. *Bipolar disorders*, *9* (1-2), 45-52. https://doi:10.1111/j.1399-5618.2007.00325.x

[35] Rosa, A. R., Reinares, M., Franco, C., Comes, M., Torrent, C., Sánchez-Moreno, J., & Vieta, E. (2009). Clinical predictors of functional outcome of bipolarpatients in remission. *Bipolar Disorders*, *11*(4), 401-409. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2009.00698.x

[36] Cacilhas, A. A., da Silva Magalhães, P. V., Ceresér, K. M., Walz, J. C., Weyne, F., Rosa, A. R., & Kapczinski, F. (2009a). Validity of a short functioning test (FAST) in Brazilian outpatients with bipolar disorder. *Value in health*, *12*(4), 624-627. https://doi.org/10.1111/j.1524-4733.2008.00481.x

[37] Lee, J. H., Byun, M. S., Sohn, B. K., Choe, Y. M., Yi, D., Han, J. Y., ... & Lee, D. Y. (2015). Functional neuroanatomical correlates of the frontal assessment battery performance in Alzheimer disease: a FDG-PET study. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, *28*(3),184-192. https://doi.org/10.1177/0891988715573533

[38] APA - American Psychiatric Association. (2002). *Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder (revision)*. American Psychiatric Pub. PMID: 11958165

[39] Miklowitz, D. J., & Scott, J. (2009). Psychosocial treatments for bipolar disorder: Cost-effectiveness, mediating mechanisms, and future directions. *Bipolar disorders*, *11*, 110-122. https://doi.org/ 10.1111/j.1399-5618.2009.00715.x

[40] Fountoulakis, K. N., Kasper, S., Andreassen, O., Blier,P., Okasha, A., Severus, E., ... & Vieta, E. (2012). Efficacyof pharmacotherapy in bipolar disorder: a report by theWPA section on pharmacopsychiatry. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, *262*(1), 1-48. https://doi:10.1007 / s00406-012-0323-x

[41] Young, R. C., Biggs, J. T., Ziegler, V. E., & Meyer, D. A. (1978). A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. *The British journal of psychiatry*, *133*(5), 429-435. https://doi:10.1192/bjp.133.5.429.

[42] Hamilton, M. (1960). A rating scale for depression. *Journal of neurology, neurosurgery, andpsychiatry*, *23*(1), 56. https://doi.org/10.1136 /jnnp.23.1.56.

[43] Cunha, P. J., & Novaes, M. A. (2004). Neurocognitive assessment in alcohol abuse and dependence:implications for treatment. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *26*, 23-27. https://doi.org/10.1590/S1516-44462004000500007

[44] Rosa, A. R., Sánchez-Moreno, J., Martínez-Aran, A., Salamero, M., Torrent, C., Reinares, M., ... & Vieta, E. (2007). Validity and reliability of the Functioning Assessment Short Test (FAST) in bipolar disorder. *Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health*, *3*(1), 1-8. https://doi:10.1186/1745-0179-3-5

[45] Barbato, A., Bossini, L., Calugi, S., D'Avanzo, B., Fagiolini, A., Koukouna, D., ... & Vallarino, M. (2013). Validation of the Italian version of the Functioning Assessment Short Test (FAST) for bipolar disorder. *Epidemiology and psychiatric sciences*, *22*(2), 187-194.https://dx.doi.org/10.1017/S2045796012000522

[46] Suominen, K., Salminen, E., Lähteenmäki, S., Tupala, T., & Isometsä, E. (2015). Validity and reliability of the Finnish version of the Functioning Assessment Short Test (FAST) in bipolar disorder. *International journal of bipolar disorders*, *3*(1), 1-5. https://doi.org/10.1186/s40345-015-0025-1

[47] Zhang, Y., Long, X., Ma, X., He, Q., Luo, X., Bian, Y., ... & Xiang, Y. T. (2018). Psychometric properties of the Chinese version of the Functioning Assessment Short Test (FAST) in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *238*, 156-160. https://doi:10.1016/j.jad.2018.05.019

[48] Ilhan, R. S., & Sentürk Cankorur, V. (2015). Clinical and Cognitive Predictors of Psychosocial Functioning During the Euthymic Period in Bipolar Disorder Type II. *Turk Psikiyatri Dergisi*, *26*(1). https://doi.org/10.5080/u7695

[49] Orhan, M., Korten, N., Kupka, R., van Oppen, P., Stek, M., Vieta, E., ... & Dols, A. (2020). Reliability and validity ofthe functioning assessment short test for older adults with bipolar disorder (FAST-O). *InternationalJournal of Bipolar Disorders*, *8*(1), 1-7. https://doi.org/10.1186/s40345-020-00193-2

[50] Moro, M. F., Colom, F., Floris, F., Pintus, E., Pintus, M., Contini, F., & Carta, M. G. (2012). Validity and reliabilityof the Italian version of the Functioning Assessment ShortTest (FAST) in bipolar disorder. *Clinical practice and epidemiology in mentalhealth: CP &EMH*, *8*,67. https://doi.org/10.2174/1745017901208010067

[51] Bonnín, C. M., Martínez-Arán, A., Reinares, M., Valenti, M., Solé, B., Jiménez, E., ... & Rosa, A. R. (2018). Thresholds for severity, remission and recovery using the functioning assessment short test (FAST) in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *240*, 57-62. https://doi:10.1016/j.jad.2018.07.045

[52] Dubois, B., Slachevsky, A., Litvan, I., & Pillon, B. F. A. B. (2000). The FAB: a frontal assessment battery at bedside. *Neurology*, *55*(11), 1621-1626. https://doi.org/10.1212/wnl.55.11.1621

[53] Álamo, A.R., Catalán-Alonso, M. J., & Carrasco-Marín, L. (2003). FAB: a preliminar Spanish application of the frontal assessment battery to 11 groups of patients. *Rev Neurol*, *36*(7), 605-608. https://doi.org/10.33588/rn.3607.2002363

[54] Lima, C. F., Meireles, L. P., Fonseca, R., Castro, S. L., & C. C. (2008). The Frontal Assessment Battery (FAB)in Park disease and correlations with formal measures of executive functioning. *Journal of neurology*, *255*(11), 1761.https://doi.org/10.1007/s00415-008-0024-6

[55] Moreira, H. S., Costa, A. S., Castro, S. L., Lima, C. F., & Vicente, S. G. (2017). Assessing executive dysfunction in neurodegenerative disorders: a critical review of brief neuropsychological tools. *Frontiers in agingneuroscience*, *9*, 369. https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00369

[56] Horton, A. M., and Wedding, D. (eds) (2008). The Neuropsychology, *3rd Edn*. New York, NY: Springer Publishing Company.https://psycnet.apa.org/record/2007-16755-000

[57] Paviour, D. C., Winterburn, D., Simmonds, S., Burgess, G., Wilkinson, L., Fox, N. C., ... & Jahanshahi, M. (2005). Can the frontal assessment battery (FAB) differentiate bradykinetic rigid syndromes? Relation of the FAB to formal neuropsychological testing. *Neurocase*, *11*(4), 274-282. https://doi.org/10.1080/13554790590962933

[58] Wong, A., Mok, V. C., Kwong Tang, W., Lam, W. W., & Sing Wong, K. (2007). Comparing Mattis Dementia Rating Scale–initiation/perseveration subset and frontal assessment battery in stroke associated with small vessel disease. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, *29*(2), 160-169. https://doi:10.1080/13803390600582453

[59] Boban, M., Malojčić, B., Mimica, N., Vuković, S., & Zrilić, I. (2012). The frontal assessment battery in the differential diagnosis of dementia. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, *25*(4), 201-207.https://doi.org/10.1177/0891988712464821

[60] Reichenberg, A., Harvey, P. D., Bowie, C. R., Mojtabai, R., Rabinowitz, J., Heaton, R. K., & Bromet, E. (2009). Neuropsychological function and dysfunction in schizophrenia and psychotic affective disorders. *Schizophrenia bulletin*, *35*(5), 1022-1029 https://doi.org/10.1093/schbul/sbn044

[61] Fiorentino, N., Gleichgerrcht, E., Roca, M., Cetkovich, M., Manes, F., & Torralva, T. (2013). The INECO Frontal Screening tool differentiates behavioral variant-frontotemporal dementia (bv-FTD) from major depression. *Dementia & neuropsychologia*, *7*(1), 33-39. https://doi.org/10.1590/S1980-57642013DN70100006

[62] Baez, S., Ibanez, A., Gleichgerrcht, E., Perez, A., Roca, M., Manes, F., & Torralva, T. (2014). The utility of IFS (INECO Frontal Screening) for the detection of executive dysfunction in adults with bipolar disorder and ADHD. *Psychiatry research*, *216*(2), 269-276. https://doi.org/10.1016/j.psychres.2014.01.020

[63] Caixeta, L., Soares, V. L., Vieira, R. T., Soares, C. D., Caixeta, V., Ferreira, S. B., & Aversi-Ferreira, T. A. (2017). Executive function is selectively impaired in old age bipolar depression. *Frontiers in psychology*, *8*, 194. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00194

[64] Gowda, S. N., Chandak, S., Sawant, V., & Kulkarni, A. (2017). Comparison of neurocognitive deficits among euthymic bipolar I disorder patients, their first degree relatives and healthy controls. *Int J Adv Med*, *4*(3), 656-660. http://dx.doi.org/10.18203/2349-3933.ijam20171513

[65] Oshima, E., Terada, S., Sato, S., Ikeda, C., Nagao, S., Takeda, N., & Uchitomi, Y. (2012). Frontal assessment battery and brain perfusion imaging in Alzheimer's disease. *International psychogeriatrics*, *24*(6),994. https://doi.org/10.1017/S1041610211002481

[66] Kopp, B., Rösser, N., Tabeling, S., Stürenburg, H. J., de Haan, B., Karnath, H. O., & Wessel, K. (2013). Performance on the Frontal Assessment Battery issensitive to frontal lobe damage in stroke patients. *BMC neurology*, *13*(1), 1-10. https://doi.org/10.1186/1471-2377-13-179

[67] Lomastro, M. J., Valerio, M. P., Szmulewicz, A. G., & Martino, D. J. (2021). Manic morbidity and executive function impairment as determinants of long-term psychosocial dysfunction in bipolar disorder. *Acta PsychiatricaScandinavica*. https://doi.org/10.1111/acps.13303

[68] Yoshida, H., Terada, S., Sato, S., Kishimoto, Y., Ata, T., Ohshima, E.,... & Kuroda, S. (2009). Frontal assessment battery and brain perfusion imaging in early dementia. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, *27*(2),133-138. https://doi.org/10.1159/000198687

[69] Chong, M. S., Lim, W. S., Chan, S. P., Feng, L., Niti, M., Yap, P., & Ng, T. P. (2010). Diagnostic performance of the Chinese Frontal Assessment Battery in early cognitive impairment in an Asian population. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, *30*(6), 525-532. https://doi.org/10.1159/000321665

[70] Lam, L. C., Tam, C. W., Lui, V. W., Chan, W. C., Chan, S. S., Chiu, H. F., ... & Chan, W. M. (2008). Screening of mild cognitive impairment in Chinese older adults–a multistage validation of the Chinese abbreviated mild cognitive impairment test. *Neuroepidemiology*, *30*(1), 6-12. https://doi.org/10.1159/000113300

[71] Wang, T. L., Hung, Y. H., & Yang, C. C. (2016). Psychometric properties of the Taiwanese (traditional Chinese) version of the Frontal Assessment Battery: A preliminary study. *Applied Neuropsychology: Adult*, *23*(1),11-20. https://doi.org/10.1080/23279095.2014.995792

[72] Rocca, C. C., & Lafer, B. (2006). Neuropsychological disturbances in bipolar disorder. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *28*(3), 226-237. https://dx.doi.org/10.1590/S1516-44462006000300016

[73] Paradiso, S., Lamberty, G. J., Garvey, M. J., & Robinson, R. G. (1997). Cognitive impairment in the euthymic phase of chronic unipolar depression. *The Journal of nervous and mental disease*, *185*(12), 748-754. https://doi.org/10.1097/00005053-199712000-00005

[74] Petersen, R. C. (2004). Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of internal medicine*, *256*(3), 183-194.https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01388.x

[75] Cyrino, L. A. R., Calegari, C. R., Tomasi, M. C., Stammerjohann, F. L. S.,& Lima, D.D. (2021)Assessment of the Impairment in Domain functionalities and Executive Functions in Euthymic Patients, with Bipolar Disorder I/1 - Utilizing the FAST and FAB tests. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)*, 8(5), 81-112 https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.85.10

[76] Park, D. C., & Reuter-Lorenz, P. (2009). The adaptive brain: aging and neurocognitive scaffolding. *Annual review of fpsychology*, *60*, 173-196. https://doi.org/10.1146/annurev.psych.59.103006.093656

[77] Salthouse, T. A. (2011). Neuroanatomical substrates of age-related cognitive decline. *Psychological bulletin*, *137*(5), 753. https://doi.org/10.1037/a0023262

[78] Strejilevich, S., & Martino, D. J. (2017). Cognition and Bipolar Disorder in Older Adults (Including Question of "Neuroprogression"). http://dx.doi.org/10.1007/978-981-10-2414-6_12

[79] Schouws, S. N., Korten, N., Beekman, A. T., Stek, M. L., & Dols, A. (2020). Does cognitive function in olderbipolar patients depend on recurrent or current moodsymptoms? *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 35 (10), 1163-1170. https://doi.org/10.1002/gps.5352

[80] Papilla, D. E., Olds, S. W., & Feldman, R. D. (2006). Desenvolvimentao Humano . Porto Alegre: Artmed.

[81] Teixeira, I. N. D., & Guariento, M. E. (2010). Biology of aging: theories, mechanisms, and perspectives. *Ciência & Saúde Coletiva*, *15*, 2845-2857. https://doi.org/10.1590/S1413-81232010000600022

[82] Zepada, M., 2010. Deterioro cognitivo. Envejecimiento humano: Uma visión transdisciplinaria. 221-228. ISBN 978-607-460-175-6

[83] Santos, J. L., Aparicio, A., Bagney, A., Sánchez-Morla, E. M., Rodríguez-Jiménez, R., Mateo, J., & Jiménez-Arriero, M. Á. (2014). A five-year follow-upstudy of neurocognitive functioning in bipolar disorder. *Bipolardisorders*, *16*(7), 722-731. https://doi.org/10.1111/bdi.12215

[84] Vasconcelos-Moreno, M. P., Bücker, J., Bürke, K. P., Czepielewski, L., Santos, B. T., Fijtman, A., & Kauer-Sant'Anna, M. (2016). Cognitive performance and psychosocial functioning in patients with bipolar disorder, unaffected siblings, and healthy controls. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *38* (4), 275-280. http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2015-1868

[85] Solé, B., Bonnin, C. M., Jiménez, E., Torrent, C., Torres, I., Varo, C., & Reinares, M. (2018). Heterogeneity of functional outcomes in patients with bipolar disorder: a cluster-analytic approach. *Acta PsychiatricaScandinavica*, *137*(6), 516-527. https://doi.org/10.1111/acps.12871

[86] Léda-Rêgo, G., Bezerra-Filho, S., & Miranda-Scippa, Â. (2020). Functioning in euthymic patients with bipolar disorder: A systematic review and meta-analysis using the Functioning Assessment Short Test. *Bipolar disorders*, *22*(6), 569-581. https://doi.org/10.1111/bdi.12904

[87] Bearden, C. E., Shih, V. H., Green, M. F., Gitlin, M., Sokolski, K. N., Levander, E., & Altshuler, L. L. (2011). The impact of neurocognitive impairment on occupational recovery of clinically stable patients with bipolar disorder: a prospective study. *Bipolardisorders*, *13*(4), 323-333. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2011.00928.x

[88] Martinez-Arán, A., Vieta, E., Colom, F., Torrent, C., Sánchez-Moreno, J., Reinares, M., ... & Salamero, M. (2004b). Cognitive impairment in euthymic bipolar patients: implications for clinical and functional outcome. *Bipolar disorders*, *6*(3), 224-232. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2004.00111.x

[89] Osuji, I. J., & Cullum, C. M. (2005). Cognition in bipolar disorder. *Psychiatric Clinics*, *28*(2), 427-441 .https://doi.org/10.1186/s12991-015-0080-0

[90] Goswami, U., Sharma, A., Khastigir, U., Ferrier, I. N., Young, A. H., Gallagher, P., & Moore, P. B. (2006). Neuropsychological dysfunction, soft neurological signs and social disability in euthymic patients with bipolar disorder. *The British Journal of Psychiatry*, *188*(4), 366-373. https://doi.org/10.1192/bjp.188.4.366

[91] Martinez-Arán, A., Vieta, E., Reinares, M., Colom, F., Torrent, C., Sánchez-Moreno, J., ... & Salamero, M. (2004a). Cognitive function across manic or hypomanic, depressed, and euthymic states in bipolar disorder. *American Journal of Psychiatry*, *161*(2), 262- 270. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.2.262

[92] Stamelou, M., Diehl-Schmid, J., Hapfelmeier, A., Kontaxopoulou, D., Stefanis, L., Oertel, W. H., ... & Höglinger, G. U. (2015). The frontal assessment battery is not useful to discriminate progressive supranuclearpalsy from frontotemporal dementias. *Parkinsonism & related disorders*, *21*(10), 1264-1268. https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.08.006

[93] Kurtz, M. M., & Gerraty, R. T. (2009). A meta-analytic investigation of neurocognitive deficits in bipolar illness: profile and effects of clinical state. *Neuropsychology*, *23*(5), 551. https://doi.org/10.1037/a0016277

[94] Borkowska A., Rybakowski, J. K. (2001) Neuropsychological frontal lobe tests indicate that bipolar depressed patients are more impaired than unipolar. *Bipolar Disord.* 3(2), 88-94. https://doi.org/10.1034/j.1399-5618.2001.030207.x. PMID: 11333068.

[95] Besnier, N., Kaladjian, A., Mazzola-Pomietto, P., Adida, M., Fakra, E., Jeanningros, R., & Azorin, J. M. (2008). Selecting material to develop an emotional Stroop test adapted to schizophrenia and bipolar disorders. *Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie*, *53*(3), 177-188. https://doi.org/10.1177/070674370805300308

[96] Tsitsipa, E., & Fountoulakis, K. N. (2015). The neurocognitive functioning in bipolar disorder: a systematic review of data. *Annals of general psychiatry*, *14*, 42. https://doi.org/10.1186/s12991-015-0081-z

[97] Schoeyen, H. K., Birkenaes, A. B., Vaaler, A. E., Auestad, B. H., Malt, U. F., Andreassen, O. A., & Morken, G. (2011). Bipolar disorder patients have similar levels of education but lower socio-economic status than the general population. *Journal of affective disorders*, *129*(1-3), 68-74. https://doi.org/10.1016/j.jad.2010.08.012

[98] Tsuchiya, K. J., Agerbo, E., Byrne, M., & Mortensen, P. B. (2004). Higher socio-economic status of parents may increase risk for bipolar disorder in theoffspring. *Psychological Medicine*, *34*(5), 787. https://doi.org/10.1017/S0033291703001491

[99] Glahn, D. C., Bearden, C. E., Bowden, C. L., & Soares, J. C. (2006). Reduced educational attainment in bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*, *92*(2-3), 309-312. https://doi.org/10.1016/j.jad.2006.01.025

[100] Wingo, A. P., Baldessarini, R. J., Holtzheimer, P. E., & Harvey, P. D. (2010). Factors associated with functional recovery in bipolar disorder patients. *Bipolardisorders*, *12*(3), 319-326. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2010.00808.x

[101] Baune, B. T., & Malhi, G. S. (2015). A review on the impact of cognitive dysfunction on social, occupational, and general functional outcomes in bipolar disorder. *Bipolardisorders*,*17*,41-55 https://doi.org/10.1111/bdi.12341

[102] Mur, M., Portella, M. J., Martinez-Arán, A., Pifarré, J., & Vieta, E. (2008). Neuropsychological profile in bipolar disorder: a preliminary study of monotherapy lithium-treated euthymic bipolar patients evaluated at a 2-year interval. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *118*(5), 373-381.https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2008.01245.x

[103] Braw, Y., Erez, G., Sela, T., Gvirts, H. Z., Hare, E. V., Bloch, Y., & Levkovitz, Y. (2013). A longitudinal study of cognition in asymptomatic and mildly symptomatic bipolar disorder patients. *Psychiatry research*, *210*(3),842-849.https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.01.003

[104] Mora, E., Portella, M. J., Forcada, I., Vieta, E., & Mur, M. (2013). Persistence of cognitive impairment and its negative impact on psychosocial functioning in lithium-treated, euthymic bipolar patients: a 6-year follow-up study. *Psychological medicine*, *43*(6), 1187. https://doi.org/10.1017/S0033291712001948

[105] Kogan, J. N., Otto, M. W., Bauer, M. S., Dennehy, E. B., Miklowitz, D. J., Zhang, H. W., ... & STEP-BD Investigators. (2004). Demographic and diagnostic characteristics of the first 1000 patients enrolled in the Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (STEP-BD). *Bipolar Disorders*, *6*(6), 460-469. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2004.00158.x

[106] Mitchell, P. B., Johnston, A. K., Corry, J., Ball, J. R., & Malhi, G. S. (2009). Characteristics of bipolar disorder in an Australian specialist outpatient clinic: comparison across large datasets. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, *43*(2), 109-117. https://doi.org/10.1080/00048670802607220

[107] Lera-Miguel, S., Andrés-Perpiñá, S., Fatjó-Vilas, M., Fañanás, L., & Lázaro, L. (2015). Two-year follow-up of treated adolescents with early-onset bipolar disorder: Changes in neurocognition. *Journal of AffectiveDisorders*, *172*, 48-54. https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.09.041

[108] Lima, I. M., Peckham, A. D., & Johnson, S. L. (2018). Cognitive deficits in bipolar disorders: Implications for emotion. *Clinical psychology review*, *59*, 126-136. https://doi.org/10.1016/j.cpr.2017.11.006

[109] Vaughn-Coaxum, R. A., Merranko, J., Birmaher, B., Dickstein, D. P., Hafeman, D., Levenson, J. C., & Goldstein, T. R. (2021). Longitudinal course of depressive symptom severity among youths with bipolar disorders:Moderating influences of sustained attention and history of child maltreatment. *Journal of Affective Disorders*, *282*,261-271.https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.12.078

[110] Martino, D. J., Igoa, A., Marengo, E., Scápola, M., & Strejilevich, S. A. (2018). Longitudinal relationship between clinical course and neurocognitive impairments in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *225*,250-255.https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.08.011

[111] Pavuluri, M. N., West, A., Hill, S. K., Jindal, K., & Sweeney, J. A. (2009). Neurocognitive function in pediatric bipolar disorder: 3-year follow-up shows cognitive development lagging behind healthy youths. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *48*(3), 299-307. https://doi.org/10.1097/CHI.0b013e318196b907

[112] Nieto, R. G., & Castellanos, F. X. (2011). A meta- analysis of neuropsychological functioning in patients with early onset schizophrenia and pediatric bipolar disorder. *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*, *40*(2), 266-280.https://doi.org/10.1080/15374416.2011.546049

[113] Samamé, C., Martino, D. J., & Strejilevich, S. A. (2014). Longitudinal course of cognitive deficits in bipolar disorder: a meta-analytic study. *Journal of affective disorders*, *164*, 130-138. https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.04.028

[114] Cacilhas, A. A., Magalhães, P. V. D. S., Ceresér, K. M., Walz, J. C., Weyne, F., Rosa, A. R., & Kapczinski, F. (2009b). Bipolar disorder and age-related functional impairment. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *31*(4), 354-357. https://doi.org/10.1590/S1516-44462009000400012

[115] Bora, E., Yücel, M., & Pantelis, C. (2010b). Cognitive impairment in affective psychoses: a meta- analysis. *Schizophrenia bulletin*, *36*(1), 112-125. https://doi.org/10.1093/schbul/sbp093

[116] Torres, I. J., Qian, H., Basivireddy, J., Chakrabarty, T., Wong, H., Lam, R. W., & Yatham, L. N. (2020). Three-year longitudinal cognitive functioning in patients recently diagnosed with bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *141*(2),98-109. https://doi.org/10.1111/acps.13141

[117] Balanzá-Martínez, V., Selva, G., Martinez-Arán, A., Prickaerts, J., Salazar, J., González-Pinto, A., & Tabarés-Seisdedos, R. (2010). Neurocognition in bipolar disorders—a closer look at comorbidities andmedications. *European Journal of Pharmacology*, *626*(1), 87-96. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.10.018

[118] Laere, E., Tee, SF, & Tang, PY (2018). Assessment of cognition in schizophrenia using the trail test: a meta-analysis. *Investigation in psychiatry15*(10), 945–955. https://doi.org/10.30773/pi.2018.07.22

[119] Sanches, M., Bauer, I. E., Galvez, J. F., Zunta-Soares, G. B., & Soares, J. C. (2015). The management of cognitive impairment in bipolar disorder: current status and perspectives. *American journal of therapeutics*, *22*(6), 477–486. https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000120

[120] Strakowski, S. M., Adler, C. M., Almeida, J., Altshuler, L. L., Blumberg, H. P., Chang, K. D., ... & Townsend, J. D. (2012). The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a consensus model. *Bipolar disorders*, *14*(4), 313-325.https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2012.01022.x

[121] 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. *Brazilian Journal of Psychiatry*, (AHEAD). https://doi.org/10.1590/1516-4446-2019-0732

[122] MacCabe, D. P., Roediger III, H. L., McDaniel, M. A., Balota, D. A., & Hambrick, D. Z. (2010). The relationship between working memory capacity and executive functioning: evidence for a common executive attention construct.*Neuropsychology*,*24*(2),222. https://doi:10.1037/a0017619

[123] Gale, C. R., Batty, G. D., McIntosh, A. M., Porteous, D. J., Deary, I. J., & Rasmussen, F. (2013). Is bipolar disorder more common in highly intelligent people? A cohort study of a million men. *Molecular psychiatry*, *18*(2),190-194 https://doi.org/10.1038/mp.2012.26

[124] Arango, C., Fraguas, D., & Parellada, M. (2014). Differential neurodevelopmental trajectories in patients with early-onset bipolar and schizophreniadisorders. *Schizophrenia bulletin*, *40 Suppl 2*(Suppl 2), S138–S146. https://doi.org/10.1093/schbul/sbt198

[125] Lima, F., Rabelo-da-Ponte, F. D., Bücker, J., Czepielewski, L., Hasse-Sousa, M., Telesca, R., & Rosa, A. R. (2019). Identifying cognitive subgroups in bipolar disorder: A cluster analysis. *Journal of affective disorders*,*246*,252-261 https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.12.044

[126] Ellison-Wright, I., & Bullmore, E. (2010). Anatomy of bipolar disorder and schizophrenia: a meta- analysis. *Schizophrenia research*, *117*(1), 1-12. https://doi.org/10.1016/j.schres.2009.12.022

[127] Depp, C. A., Mausbach, B. T., Harmell, A. L., Savla, G. N., Bowie, C. R., Harvey, P. D., & Patterson, T. L. (2012). Meta-analysis of the association between cognitive abilities and everyday functioning in bipolar disorder. *Bipolar disorders*, *14*(3), 217-226. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2012.01011.x

[128] Goodkind, M., Eickhoff, S. B., Oathes, D. J., Jiang, Y., Chang, A., Jones-Hagata, L. B.,. & Etkin, A. (2015). Identification of a common neurobiological substrate for mental illness. *JAMA psychiatry*, *72*(4), 305-315. https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2014.2206

[129] Martino, D. J., Samamé, C., Marengo, E., Igoa, A., & Strejilevich, S. A. (2016a). A critical overview of the clinical evidence supporting the concept of neuroprogression in bipolar disorder. *PsychiatryRes*, *235*, 1-6. http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2015.12.012

[130] Vieta, E., Popovic, D., Rosa, A. R., Solé, B., Grande, I., Frey, B. N., &, F. (2013). The clinical implications of Cognitive impairment and allostatic load in bipolar disorder. *European Psychiatry*, *28*(1), 21- 29. https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2011.11.007

[131] Kupfer, D. J. (2005). The increasing medical burden in bipolar disorder. *Jama*, *293*(20), 2528-2530. https://doi.org/10.1001/jama.293.20.2528

[132] Daban, C., Vieta, E., Mackin, P., & Young, A. H. (2005). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and bipolardisorder. *Psychiatric Clinics*, *28*(2), 469-480. https://doi.org/10.1016/j.psc.2005.01.005

[133] Kapczinski, F., Frey, B. N., Andreazza, A. C., Kauer-Sant'Anna, M., Cunha, Â., & Post, R. M. (2008). Increased oxidative stress as a mechanism for decreased BDNF levels in acute manic episodes. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *30*(3), 243-245. https://doi.org/10.1590/S1516-44462008000300011

[134] Kauer-Sant'Anna, M., Kapczinski, F., Andreazza, A. C., Bond, D. J., Lam, R. W., Young, L. T., & Yatham, L. N. (2009). Brain-derived neurotrophic factorand inflammatory markers in patients with early-vs. late-stage bipolar disorder.*International Journal of Neuropsychopharmacology*, *12*(4), 447-458. https://doi.org/10.1017/S1461145708009310

[135] Szmulewicz, A., Valerio, M., & Martino, D. J. (2020a). Cognitive decline and neuroprogression in bipolar disorder: A case for Hitchens' razor. *Bipolar Disorders*, *22*(5), 536-536.https://doi.org/10.1111/bdi.12953

[136] Drevets, W. C., Price, J. L., Simpson, J. R., Todd, R. D., Reich, T., Vannier, M., & Raichle, M. E. (1997). Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature*, *386*(6627), 824-827. https://doi.org/10.1038/386824a0

[137] Adler, C. M., Holland, S. K., Schmithorst, V., Wilke, M., Weiss, K. L., Pan, H., & Strakowski, S. M. (2004). Abnormal frontal white matter tracts in bipolar disorder: a diffusion tensor imaging study. *Bipolar disorders*, *6*(3), 197-203.https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2004.00108.x

[138] Beyer, J. L., Taylor, W. D., MacFall, J. R., Kuchibhatla, M., Payne, M. E., Provenzale, J. M., & Krishnan, K. R. R. (2005). Cortical white matter microstructural abnormalities in bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*, *30*(12), 2225-2229. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300802

[139] Abé, C., Ekman, C. J., Sellgren, C., Petrovic, P., Ingvar, M., & Landén, M. (2015). Manic episodes are related to changes in frontal cortex: a longitudinal neuroimaging study of bipolar disorder 1. *Brain*, *138*(11), 3440-3448.https://doi.org/10.1093/brain/awv266

[140] Mwangi, B., Wu, MJ, Cao, B., Passos, IC, Lavagnino, L., Keser, Z., ... & Soares, JC (2016). Individualized prediction and clinical staging of bipolar disorders using neuroanatomical biomarkers. *Biological psychiatry: cognitive neuroscience and neuroimaging*, *1* (2), 186-194. https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2016.01.001

[141] Scussel, F., Salvador, L. C., Brandão, L. S., & Feier, G. (2016). Clinical profile of patients with bipolar disorder treated at a specialized clinic in southern Santa Catarina *Arquivos Catarinenses de Medicina*, *45*(4), 3-10.http://www.acm.org.br/acm/seer/index.php/arquivos/article/view/133

[142] Szmulewicz, A., Valerio, M. P., & Martino, D. J. (2020b). Longitudinal analysis of cognitive performancesin recent-onset and late-life Bipolar Disorder: A systematic reviewand meta-analysis. *Bipolar disorders*, *22*(1), 28-37. https://doi.org/10.1111/bdi.12841

[143] Stuss, D. T. (2011). Functions of the frontal lobes: relation to executive functions. *Journal ofthe International Neuropsychological Society: JINS*, *17*(5), 759. https://doi.org/10.1017/S1355617711000695

[144] Miller, B. L., & Cummings, J. L. (Eds.). (2017). The human frontal lobes: Functions and disorders. Guilford Publications. ISBN 9781462531837

[145] López-Larson, M. P., DelBello, M. P., Zimmerman, M. E.,Schwiers, M. L., & Strakowski, S. M. (2002). Regional prefrontal gray and white matter abnormalities in bipolar disorder. *Biological psychiatry*, *52*(2), 93-100. https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01350-1

[146] Frangou, S., Raymont, V., & Bettany, D. (2002). The Maudsley bipolar disorder project. A survey of psychotropic prescribing patterns in bipolar Idisorder. *Bipolar disorders*, *4*(6), 378-385. https://doi.org/10.1034/j.1399-5618.2002.01223.x

[147] Bora, E., Fornito, A., Yücel, M., & Pantelis, C. (2010a). Voxelwise meta-analysis of gray matter abnormalities in bipolar disorder. *Biological psychiatry*, *67*(11), 1097- 1105. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.01.020

[148] Power, J. D., Cohen, A. L., Nelson, S. M., Wig, G. S., Barnes, K. A., Church, J. A., & Petersen, S. E. (2011). Functional network organization of the human brain. Neuron, 72(4), 665-678. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.006

[149] Bonelli, R. M., & Cummings, J. L. (2007). Frontal-subcortical circuitry and behavior. *Dialogues in clinical neuroscience*, *9*(2), 141. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17726913

[150] Arnsten, A. F., & Rubia, K. (2012). Neurobiological circuits regulating attention, cognitive control, motivation, and emotion: disruptions in neurodevelopmental psychiatric disorders. *Journal of the American Academy of Child & AdolescentPsychiatry*, *51*(4), 356-367. https://doi.org/10.1016/j.jaac.2012.01.008

[151] Yang, T., Zhao, G., Mao, R., Huang, J., Xu, X., Su, Y., ...& Fang, Y. (2018). The association of duration and severity of disease with executive function: differences between drug-naïve patients with bipolar and unipolardepression. *Journal of affective disorders*, *238*, 412-417. https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.05.051

[152] Yang, T., Lam, R. W., Huang, J., Su, Y., Liu, J., Yang, X., ... & Fang, Y. (2021). Exploring the Effects of Temperament on Gray Matter Volume of Frontal Cortex in Patients with Mood Disorders. *NeuropsychiatricDisease and Treatment*, *17*, 183. https://doi.org/10.2147/NDT.S287351

[153] Nagata, T., Shinagawa, S., Ochiai, Y., Aoki, R., Kasahara, H., Nukariya, K., & Nakayama, K. (2011). Association between executive dysfunction andhippocampal volume in Alzheimer's disease. *International Psychogeriatrics*, *23*(5), 764. https://doi.org/10.1017/ S1041610210002164

[154] Hoffmann, M. (2013). The human frontal lobes and frontal network systems: an evolutionary, clinical, and treatment perspective. *International Scholarly Research Notices*, *2013*. https://doi.org/10.1155/2013/892459

[155] Pellecchia, M. T., Picillo, M., Santangelo, G., Longo, K., Moccia, M., Erro, R., ... & Pappata, S. (2015). Cognitive performances and DAT imaging in early Parkinson's disease with mild cognitive impairment: a preliminary study. *Acta Neurologica Scandinavica*, *131*(5), 275-281. https://doi.org/10.1111/ane.12365

[156] Brugger, F., Abela, E., Hägele-Link, S., Bohlhalter, S., Galovic, M., & Kägi, G. (2015). Do executive dysfunction and freezing of gait in Parkinson's disease share the same neuroanatomical correlates?. *Journal ofthe neurological sciences*,*356*(1-2),184-187. https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.06.046

[157] Hurtado-Pomares, M., Carmen Terol-Cantero, M.,Sánchez-Pérez, A., Peral-Gómez, P., Valera-Gran, D., & Navarrete-Muñoz, E. M. (2018). The frontal assessment battery in clinical practice: a systematic review. *International journal of geriatric psychiatry*, *33*(2), 237-251. https://doi.org/10.1002/gps.4751

[158] Han, M., Kim, D. Y., Leigh, J. H., & Kim, M. W. (2020). Value of the Frontal Assessment Battery Tool for Assessing the Frontal Lobe Function in StrokePatients. *Annals of rehabilitation medicine*, *44*(4), 261–272.https://doi.org/10.5535/arm.19111

[159] Cao, B., Passos, I.C., Mwangi, B., Bauer, I.E., ZuntaSoares, G.B., Kapczinski, F., et al., (2016). Hippocampal volume and verbal memory performance in late-stage bipolar disorder. J Psychiatr Res. 73, 102-107.https://doi.org/10.1016/ j.jpsychires.2015.12.012

[160] Blond, B. N., Fredericks, C. A., & Blumberg, H. P. (2012). Functional neuroanatomy of bipolar disorder: structure, function, and connectivity in an amygdala– anterior paralimbic neural system. *Bipolar disorders*, *14*(4), 340-355. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2012.01015.x

[161] Nakamura-Palacios, E. M., Souza, R. S., Zago-Gomes, M. P., de Melo, A. M., Braga, F. S., Kubo, T. T., & Gasparetto, E. L. (2014). Gray matter volume in left rostral middle frontal and left cerebellar cortices predicts frontal executive performance in alcoholic subjects. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *38*(4), 1126-1133. https://doi.org/10.1111/acer.12308

[162] Martino, D. J., Strejilevich, S. A., Marengo, E., Ibañez, A., Scápola, M., & Igoa, A. (2014). Toward theidentification of neurocognitive subtypes in euthymic patients with bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *167*, 118- 124. https://doi:10.1016 / j.jad.2014.05.059

[163] Pan, M. M., Pousa, E., Cobo, J., & Duño, R. (2014). Cognitive executive performance infl uences functional outcome in euthymic type I bipolar disorder outpatients. *Psicothema*, *26*(2), 166-173. https://doi.org/10.7334/psicothema2013.111

[164] Chaves, O. C., Lombardo, L. E., Bearden, C. E., Woolsey, M. D., Martinez, D. M., Barrett, J. A &Glahn, D. C. (2011). Association of clinical symptoms and neurocognitive performance in bipolar disorder: a longitudinal study. *Bipolar disorders*, *13*(1), 118-123. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2011.00888.x

[165] Szmulewicz, A. G., Samame, C., Martino, D. J., & Strejilevich, S. A. (2015). An updated review on the neuropsychological profile of subjects with bipolar disorder. *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*, *42*(5), 139-146. https://doi.org/10.1590/0101-60830000000064

[166] Martínez-Arán, A., Vieta, E., Colom, F., Reinares, M., Benabarre, A., Gastó, C., & Salamero, M. (2000). Cognitive dysfunctions in bipolar disorder: evidence of neuropsychological disturbances. *Psychotherapy and psychosomatics*, *69*(1), 2-18. https://doi.org/10.1159/000012361

[167] Sanchez-Moreno, J., Martinez-Aran, A., Tabarés-Seisdedos, R., Torrent, C., Vieta, E., & Ayuso-Mateos, J.L. (2009). Functioning and disability in bipolar disorder: an extensive review. *Psychotherapy and psychosomatics*, *78*(5), 285- 297. https://doi.org/10.1159/000228249

[168] Martino, D. J., Marengo, E., Igoa, A., Scápola, M., Urtueta- Baamonde, M., & Strejilevich, S. A. (2016b). Accuracy of the number of previous episodes reported by patientswith bipolar disorder. *Comprehensive psychiatry*, *65*, 122-127 ttps://doi.org/10.1016/j.comppsych.2015.11.005

[169] Latalova, K., Prasko, J., Diveky, T., Kamaradova, D., & Velartova, H. (2011). Quality of life in patients with bipolar disorder–a comparison with schizophrenicpatients and healthycontrols. *Psychiatria Danubina*, *23*(1.), 21- 26. PMID: 21448093

[170] Rosa, A. R., González-Ortega, I., González-Pinto, A., Echeburúa, E., Comes, M., Martínez-Àran, A., & Vieta, E. (2012). One-year psychosocial functioning in patients in the early vs. late stage of bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *125*(4), 335- 341.https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2011.01830.x

[171] Valerio, M. P., Lomastro, J., & Martino, D. J. (2020). Neurocognitive predictors of long-term clinical course inbipolar disorder. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*,*54*(11),1101-1106. https://doi.org/10.1177/0004867420946844

[172] Chen, W. Y., Huang, M. C., Lee, Y. C., Chang, C. E., Lin, S. K., Chiu, C. C., & Kuo, P. H. (2020). Dissect the Heterogeneity of Longitudinal Cognitive Declines with Risk Factors and Functional Outcomes in Bipolar Disorder. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-97680/v1

[173] Sachs, G., Berg, A., Jagsch, R., Lenz, G., & Erfurth, A. (2020). Predictors of Functional Outcome in Patients withBipolar Disorder: Effects of Cognitive PsychoeducationalGroup Therapy After 12 Months. *Frontiers in Psychiatry*, *11*, 1312.https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.530026

[174] Bora, E., Yucel, M., & Pantelis, C. (2009). Cognitive endophenotypes of bipolar disorder: a meta-analysis of neuropsychological deficits in euthymic patients and theirfirst-degree relatives. *Journal of affective disorders*, *113*(1-2), 1-20. https://doi.org/10.1016/j.jad.2008.06.009

[175] Etkin, A., Gyurak, A., & O'Hara, R. (2013). A neurobiological approach to the cognitive deficits of psychiatric disorders. *Dialogues in clinical neuroscience*,*15*(4),419–429. https://doi.org/10.31887/DCNS.2013.15.4/aetkin

[176] Baune, B. T., Li, X., & Beblo, T. (2013). Short-and long- term relationships between neurocognitive performance and general function in bipolar disorder. Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology, 35(7), 759– 774 https://doi.org/10.1080/13803395.2013.824071

[177] Martínez-Aran, A., Penades, R., Vieta, E., Colom, F., Reinares, M., Benabarre, A., ... & Gasto, C. (2002b). Executive function in patients with remitted bipolar disorder and schizophrenia and its relationship with functional outcome. *Psychotherapy andpsychosomatics*,*71*(1), 39- 46. https://doi.org/10.1159/000049342

[178] Judd, L. L., Akiskal, H. S., Schettler, P. J., Endicott, J., Leon, A. C., Solomon, D. A., & Keller, M. B. (2005). Psychosocial disability in the course of bipolar I and II disorders: a prospective, comparative, longitudinal study. *Archives of general psychiatry*, *62*(12), 1322-1330.https://doi.org/10.1001 / archpsyc.62.12.1322

[179] Tohen, M., Bowden, C. L., Calabrese, J. R., Lin, D., Forrester, T. D., Sachs, G. S., & Grunze, H. (2006). Influence of sub-syndromal symptoms after remission from manic or mixed episodes. *The British Journal of Psychiatry*, *189*(6), 515-519. https://doi:10.1192 / bjp.bp.105.020321

[180] Frye, M. A., Yatham, L. N., Calabrese, J. R., Bowden, C. L., Ketter, T. A., Suppes, T., ... & Thompson, T. R.(2006). Incidence and time course of subsyndromal symptoms in patients with bipolar I disorder: an evaluation of 2 placebo-controlled maintenancetrials. *Journal of Clinical Psychiatry*, *67*(11), 1721-1728. https://doi.org/10.4088 / jcp.v67n1108

[181] Zaretsky, A., Lancee, W., Miller, C., Harris, A., & Parikh, S. V. (2008). Is cognitive-behavioural therapy more effective than psychoeducation in bipolar disorder?. *The Canadian journal of psychiatry*, *53*(7), 441-448. https://doi.org/10.1177/070674370805300709

[182] Torrent, C., Bonnin, C. D. M., Martínez-Arán, A., Valle, J., Amann, B. L., González-Pinto, A., ... & Vieta, E. (2013). Efficacy of functional remediation in bipolar disorder: a multicenter randomized controlled study. *American Journal of Psychiatry*, *170*(8), 852-859. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12070971

[183] Solé, B., Jiménez, E., Martinez-Aran, A., & Vieta, E. (2015). Cognition as a target in major depression: new developments. *European Neuropsychopharmacology*, *25*(2),231 .https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2014.12.004

[184] Szmulewicz, A. G., Valerio, M. P., Lomastro, J., Smith, J. M., Chiappe, V., Martino, D. J., & Igoa, A. (2018). Neurocognitive functioning in first-episode Bipolar Disorder: Relationship with functional status. *Journal of Affective disorders*, 228, 97-100

[185] Martínez- Aran, A., Torrent, C., Solé, B., Bonnín, C. M., Rosa, A.R., Sanchez- Moreno, J., 7 Vieta ,E. (2011). Functional remediation for bipolar disorder. *Clinical pratice and epidemiology in mental health: CP 7 EMH*, 7, 112. https://doi.org/10.2174/1745017901107010112

[186] Bonnin, C. D. M., Torrent, C., Arango, C., Amann, B. L.,Sole, B., Gonzalez-Pinto, A., ... & Martinez-Aran, A. (2016). Functional remediation in bipolar disorder: 1-year follow-up of neurocognitive and functional outcome. *TheBritish Journal of Psychiatry*, *208*(1), 87-93. https://doi:10.1192/bjp.bp.114.162123

[187] Eisner, L., Eddie, D., Harley, R., Jacobo, M., Nierenberg, A. A., & Deckersbach, T. (2017). Dialectical behaviortherapy group skills training forbipolar disorder. *Behavior therapy*, *48*(4), 557-566. https://doi.org/10.1016/j.beth.2016.12.006

[188] Van Dijk, S., Jeffrey, J., & Katz, M. R. (2013). A randomized, controlled, pilot study of dialectical behaviortherapy skills in a psychoeducational group for individuals with bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *145*(3),386-393. https://doi:10.1016/j.jad.2012.05.054

[189] Goldstein, T. R., Fersch-Podrat, R. K., Rivera, M., Axelson, D. A., Merranko, J., Yu, H., & Birmaher, B. (2015). Dialectical behavior therapy for adolescents withbipolar disorder: results from a pilot randomized trial. *Journal of child and adolescent psychopharmacology*,*25*(2),140-149. https://doi.org/10.1089/cap.2013.0145

[190] Leichsenring, F., Steinert, C., & Ioannidis, J. P. (2019). Toward a paradigm shift in treatment and research of mental disorders. *Psychological medicine*, *49*(13), 2111-2117. https://doi.org/10.1017/S0033291719002265

5.4. ARTIGO 4

Effect of Cytokines and Neurotrophins in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease

Luiz Arthur Rangel Cyrino*, Daniela Delwing-de Lima, Silvia Aparecida Ramos, Oliver Matheus Ullmann, YasminMayer, Gabriela Kozuchovski Ferreira and Débora Delwing-Dal Magro

Artigo publicado na revista *EC Neurology*
em Jan. 2022

ECRONICON OPEN ACCESS

EC NEUROLOGY
Research Article

Effect of Cytokines and Neurotrophins in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease

Luiz Arthur Rangel Cyrino[1,3]*, Daniela Delwing-de Lima[1,2], Silvia Aparecida Ramos[1], Oliver Matheus Ullmann[1], Yasmin Mayer[1], Gabriela Kozuchovski Ferreira[4] and Débora Delwing-Dal Magro[5]

[1]*Postgraduate Program in Health and Environment, Universidade da Região de Joinville-UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, Joinville, SC CEP, Brazil*

[2]*Department of Medicine,Universidade da Região de Joinville-UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, Zona Industrial Norte, Joinville, SC CEP, Brazil*

[3]*Pharmacy Department, Universidade da Região de Joinville-UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, Zona Industrial Norte, Joinville, SC CEP, Brazil*

[4]*Department of Natural Sciences, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Regional de Blumenau, Rua Antônio da Veiga, Blumenau, SC CEP, Brazil*

[5]*Postgraduate Program in Materials Science and Engineering, UNISOCIESC, Joinville, Santa Catarina, Brazil*

***Corresponding Author**: Luiz Arthur Rangel Cyrino, Postgraduate Program in Health and Environment, Universidade da Região de Joinville-UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, Joinville, SC CEP, Brazil.

Received: December 23, 2021; **Published:** January 27, 2022

Abstract

Background: Bipolar Disorder (BD) is associated with neuroinflammation, and is represented by alterations in cytokines and neurotrophins, leading to neurological damage, which may reflect on cognitive functions, functionality, and disease progression.

Objective: Our aim was to analyze the effect of three cytokines (IL-6, IL-10 and TNF-α) and two neurotrophins (BDNF and GDNF) in bipolar patients and correlate them within two different groups depending on the length of the disease.

Methods: Fifty bipolar patients, type I/II, with more than six months in the euthymic phase, were studied, and then divided into two subgroups of 25 patients (≤ 3 years, and with ≥ 10 years of diagnosis, since the first episode of mania), and 25 control patients.

Results: Analyzing the levels of cytokines, there were no statistical differences between the groups evaluated, $p > 0.05$. However, BDNF levels were increased, ≤ 3 years (20.63 ± 8.21), ≥ 10 years (27.80 ± 12.50) and the control group (9.80 ± 5.94), $p < 0.001$.

Conclusion: Bipolar patients in euthymia did not show statistical differences in cytokines, but BDNF was increased, showing an improvement in neuroinflammation.

Keywords: *Bipolar Disorder; Neuroinflammation; Neuroprogression; Cytokines; Neurotrophins*

Introduction

Bipolar Disorder (BD) is a chronic and severe disease, associated with recurrent mood changes, characterized by cyclic episodes of depression and mania, which presents periods of mood stability (euthymia), with remission of symptoms. The diagnosis is based on the manifestation of at least one manic or hypomanic episode during life [1]. The aim of pharmacological treatment is the management of

acute episodes (seeking to lead a patient in mania or depression to euthymia) and to maintain the euthymic state to prevent the occurrence of new episodes, reduce subsyndromal symptoms and increase the functionality of patients. The pathophysiology of BD is not fully understood, being influenced by genetic and environmental factors, such as chronic stress. Recent studies have shown that from the first few mood episodes, neurological changes occur in the neurotransmission, neuroplasticity, growth factor signaling, metabolism, as well as oxidative stress and neuronal apoptosis, altering brain development and leading to neuroinflammation [2-4].

All these neuronal abnormalities can result in morphological changes, such as reduced prefrontal and hippocampal volumes leading to a reorganization of brain circuits, resulting in a gradual decline in behavior and cognitive functions, with impairments in functionality [4,5]. Thus, the progressive structural and biochemical changes from the first episodes of BD, or in the early-stages of the disease will evolve to more advanced stages, producing a slow evolution of the clinical process, called neuroprogression. With the progression of the disease, there is an increase in the frequency and severity of episodes of mania and depression over the years. It leads to an increase in the number of associated medical and psychiatric comorbidities, with an imbalance between pro and anti-inflammatory factors, reduction of neurotrophins, and increased oxidative stress. In addition, BD can be seen as a multisystem inflammatory disease, being represented by changes in serum biomarkers, which could function as indicators of cell toxicity in these patients [6]. In the last decade, it was observed that chronic mild inflammatory processes and immune neural interactions might be involved in the pathophysiology of major depression and BD [7,8]. One of the most intensely observed lines of research was the link between increased levels of cytokines and a decrease in serum neurotrophins in different mood states in BD. Thus, studies have shown that cytokines access the brain and interact with all pathophysiological domains relevant to BD. Furthermore, Miller., *et al.* (2009) [9] observed that peripheral cytokines reach the brain through different components, including alterations in the brain blood barrier, active transport, activation of endothelial cells, and binding to cytokine receptors. Levels of pro-inflammatory cytokines such as interleukin-1 (IL-1), IL-2, IL-4, IL-6, tumor necrosis factor-α (TNF-α), and C-reactive protein (CRP), as well as anti-inflammatory interleukins such as IL-10 were altered in the different phases of the disease (mania, depression, and euthymia), as well as in both the early and late-stages of the disease. A similar phenomenon was observed with neurotrophins, where, proinflammatory cytokines induce a decrease in neurotrophins, in particular, Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). It leads to decreased neuronal repair, decreased neurogenesis, and increased glutamatergic pathway that contributes to neuronal apoptosis, oxidative stress, and the induction of apoptosis in astrocytes and oligodendrocytes [10]. Therefore, it creates a perpetuating pathogenic cycle, contributing to a chronic neuroinflammation process. Thus, this research intends to corroborate with the neuroprogression and neuroinflammation hypothesis, which was developed and described by Kapczinski., *et al.* (2008) [11]; Berk (2009) [12] and Berk., *et al.* (2011) [2]. Our group focused on IL-6, TNF-α, and IL-10 and the neuroprotective substances, BDNF and Glial-Derived Neurotrophic Factor (GDNF). We seeked to help understand how a disease, which initially manifests with a relatively benign condition, can deteriorate in a few years, presenting a reduction in cognitive functions and functional recovery capacity, to the point of preventing bipolar patients from leading a normal life.

Materials and Methods

Ethics

The Research Ethics Committee of Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE (protocol number 655.037), approved this study. Each patient underwent a clinical and psychiatric evaluation, where demographic, anthropometric, pharmacological data and clinical variables were collected. The study evaluated 50 outpatients, with BD types I/II, in their euthymic state, who were recruited from the Porto Seguro Psychiatric Hospital, located in the city of Curitiba, Brazil.

Participants

The participants were divided into three distinct groups, each one with 25 individuals: 25 euthymic BD patients in the early-stage of disease (≤ 3 years since the diagnosis of BD from the first manic episode); 25 euthymic BD patients in the late stage of disease (≥ 10 years

since the diagnosis of BD from the first manic episode), and 25 healthy controls. The psychiatric diagnosis of BD patients for types I/II was defined in the Manual Diagnosis and Statistics of Mental Disorders (DSM-V), and confirmed by Semi-Structured Clinical Interview, according to DSM-V (SCID-5-CV). Manic and depressive symptoms were assessed using the Young Mania Rating Scale (YMRS) [13] and the 17 items version of the Hamilton Depression Rating Scale (HAMD-17) [14] respectively. With the HAMD-17 scale, we evaluated depressive symptoms that had occurred within the last week, and in YMRS, manic symptoms that had presented themselves within the last 48 hrs. The cutoff scores used in the study were: YMRS > 7 as an indication of mania, and HAMD-17 > 7 as an indication of depression.

Criteria

The inclusion criteria of bipolar patients in the euthymic stage were: (a) the patients had been in euthymic phase at least six months (b) active age (18 - 60 years); (c) none of the patients had a history of addiction or substance abuse in the last year; (d) no history of neurodegenerative diseases, cancer, morbid obesity or trauma; (e) patients had no significant comorbid medical conditions, and did not receive medication in addition to those prescribed for their psychiatric condition; these should have been used for at least four weeks; (f) non-smokers (g) not pregnant or breastfeeding (h) patients were able to understand the procedures and protocol and provided written informed consent, and did not present cognitive impairment with disability or dementia, physical disabilities, e.g. visual or hearing impairing. Healthy controls were selected among hospital staff, and the subjects were matched for demographic parameters.

Demographic, clinical, and pharmacological data

Demographic variables were age, gender, marital status, education level, employment situation, and years of education. Clinical variables were age at onset, illness duration (years), hospitalization and the duration of hospitalizations, suicide attempts, relatives' antecedents of mental diseases.

In vivo studies

Plasma preparation

The blood samples were obtained between 8:00 A.M and 10:00 A.M. by the laboratory at the Porto Seguro Hospital outpatient clinic, and by the Werner laboratory in Joinville. To analyze the BDNF, GNDF, interleukin IL-6, IL-10 and TNF-α, 20 mL of peripheral blood was taken from each individual by venipuncture into an anticoagulant-free vacuum tube. Blood samples were centrifuged at 1,000-X g for 10 min. Plasma was then removed by aspiration and frozen at -80°C until the assay.

Biochemical assays and protein determination

All biochemical assays were run in duplicates. Serum levels of BDNF, GNDF, interleukin IL-6, IL-10 and TNF-α were measured through the sandwich-ELISA, using a commercial kit RAB0026, RAB0205, RAB1089, RAB0306 and RAB0244 respectively, (Sigma-Aldrich, USA). These assays employed a specific capture antibody coated on a 96-well plate. Standards and samples were pipetted into the wells and the target protein presented in the sample was attached to the wells by immobilized antibodies. The wells were washed and a specific biotinylated antibody detection was added to the target protein. After washing the unbound biotinylated antibody, streptavidin conjugated to HRP was pipetted into the wells. The wells were washed again, a TMB substrate solution was added to the wells, and the color developed in proportion to the amount of BDNF, GDNF, IL-6, IL-10 and TNF-α bound. The stop solution changed the color from blue to yellow, and the color intensity was determined (absorbance adjusted to 450nm). The specific activity was reported as ng/ml protein.

Statistical analysis

Demographic and clinical variables were analyzed using descriptive statistics, including (mean), and (standard deviation) for quantitative variables and absolute frequency (n), and relatives (%), for qualitative variables with a confidence interval of 95% in both cases.

For the qualitative nominal and ordinal data, we used the Chi-square test (χ^2) of Pearson and for two or more groups, we used Fisher's exact test. Parametric and nonparametric tests were used for the analysis of qualitative variables. The assumption of normality and homoscedasticity of each variable was analyzed with the Kolmogorov-Smirnov normality test and Levene's, respectively. For comparisons of parametric variables between two groups, the Student *t*-test was used, and for more than two groups the Tukey's test of analysis of variance (ANOVA) was used. To compare non-parametric variables between two and three independent samples, the Mann-Whitney tests and the Kruskal-Wallis tests were used, respectively. Dunn's post hoc test was performed to peer comparisons in case the main effects were significant. The most recent version of the SPSS software program (SPSS Inc., Chicago, USA) was used. To calculate the statistical power analyzes, we used the program - G* Power 3.1. Statistical significance was set at $p < 0.05$ for all tests or adopting a level of significance of 5% to reject the null hypotheses.

Results

Demographic, clinical and pharmacological characteristics

The demographic and clinical characteristics of the different groups studied were evaluated. The sample included 25 healthy controls, and 50 patients with BD divided in two groups of euthymic patients (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease). Initially, we calculated the sample size - difference between two independent means (two tails). The analyses showed an effect size d = 0.853; α = 0.05; power (1-β err prob) = 0.80; non-centrality parameter δ =2.89; critical t = 2.01; Df = 44; sample size group 1 = 23; sample size group 2 = 23; total sample size = 46; actual power = 0.808. Thirty-six euthymic patients (72%) were female. The healthy control group had a mean age of (36.1 ± 9.87) and the euthymic patients analyzed had a mean age of (34.9 ± 10.04 years in the group of ≤ 3 years of the disease), and (47.4 ± 8.21 years in the group of ≥ 10 years of the disease). Utilizing the one-way ANOVA followed by Dunn's post hoc test, the means of healthy controls and euthymic patients differ between ages ($p < 0.01$). Utilizing the Chi-square test, there was no difference between the gender groups, occupational status, and marital status ($p > 0.05$). In addition, it was observed that after performing the Chi- square test followed by the Fisher's exact test, the groups did not significantly differ in terms of their educational level ($p > 0.05$). The mean years of education were (14.7 ± 2.18) years in the healthy control group, and the euthymic patients analyzed had a mean of (13.8 ± 2.70 years in the group of ≤ 3 years of the disease), and (12.4 ± 2.77 years in the group of ≥ 10 years of the disease). After performing the Kruskal-Wallis test, the groups significantly differed in terms of years of education ($p < 0.01$) as seen in table 1.

Healthy Controls n = 25		Bipolar Patients ≤ 3 years n = 25	Bipolar Patients ≥ 10 years n = 25	p - Value
Age, years[b]	35.0 (± 9.96)	34.9 (± 10.04)	47.4 (± 8.21)	p < 0 .01[c]
Gender, n				p = 0.77[a]
Male	9	7	7	
Female	16	18	18	
Education n (%)				p = 0 .13[a]
Illiterate	-	-	-	
Up to primary school	0 (0)	3 (12)	4 (16)	
Up to high school	10 (40)	10 (40)	12 (48)	
Graduate	12 (48)	12 (48)	9 (36)	
Postgraduate	3 (12)	0 (0)	0 (0)	
Years of education[b]	14.7 (±2.18)	13.8 (±2.70)	12.4 (±2.77)	p < 0.01[a]
Work situation n (%)				p = 0.17[a]
Employed	23 (92)	18 (72)	13 (52)	
Unemployed	2 (8)	6 (24)	10 (40)	
Medical benefits	0 (0)	1 (4)	0 (0)	
Invalidity	0 (0)	0 (0)	2 (8)	

Table 1: *Socio demographic characteristics.*

The bipolar patients had a mean of disease duration of ≤ 3 years (2.52 ± 0.65), and ≥ 10 years (15.64 ± 6.81), and the mean age at onset of the disease was ≤ 3 years (22.1 ± 7.01), and ≥ 10 years (25.1 ± 6.17). Twenty patients (40%) had previously been hospitalized. Among these patients, the mean duration of hospitalization was (13.2 days ± 0.967), and patients with ≤ 3 years of the disease, attempted suicide 18 times (involving 11 patients), whereas the patients with ≥ 10 years of the disease attempted suicide 40 times (involving 20 patients). The family history of BD was positive in 23 patients.

Regarding pharmacologic treatment, our results showed that 10 (20%) of the patients were on monotherapy. Among the patients on polypharmacy, 18 (36%), 16 (32%), and six (12%) of the patients received two, three, and four Psychotropic medications, respectively. The percentages of mood stabilizers, antipsychotics, antidepressants, and benzodiazepines used in patients according to their clinical symptoms, are presented in table 2. To evaluate the absence of depression or mania in the samples, the HAM-D and YMRS tests were used in the healthy control group, and the euthymic patients' group respectively. The observed results had a mean HAM-D score of (4.32 ± 2.49) for the healthy control group, and (4.10 ± 2.02) for euthymic patients with ≤ 3 years of the disease, and (3.71 ± 1.46) for euthymic patients with ≥ 10 years of the disease. After performing the ANOVA one-way test, the groups did not differ ($p > 0.05$). Regarding the YMRS score, the mean was (0.64 ± 0.90) to the healthy control group, and (0.88 ± 1.01) to euthymic patients with ≤ 3 years of the disease, and (1.28 ± 1.13) for euthymic patients with ≥ 10 years of the disease. After performing the Kruskal-Wallis test, the groups did not differ ($p > 0.05$) as seen in table 2.

Healthy Controls n = 25		Bipolar patients ≤ 3 years n = 25	Bipolar patients ≥ 10 years n = 25	p-Value
Illness duration (years)[a]	N/A	2.52 (± 0.65)	15.64 (± 6.81)	p < 0.001[d]
Age of onset (years)[a]	N/A	22.1 (± 7.01)	25.1 (± 6.17)	p = 0.62[d]
HAMD-17 total score[a]	4.32 (± 2.49)	4.10 (± 2.02)	3.71 (± 1.46)	p = 0.53[b]
YMRS total score[a]	0.56 (± 0.86)	0.88 (± 1.01)	1.28 (± 1.13)	p = 0.08[c]
FAST score, median (IQR)	9 (7)	22 (10)	23 (20)	p < 0.001[c]
FAB score, median (IQR)	16 (3)	14 (4.5)	14 (3.5)	p < 0.001[b]
Hospitalizations n (%)	N/A	12 (48)	8 (32)	
Treatment n (%)				
Lithium	N/A	13 (52)	15 (60)	
Other mood stabilizers	N/A	11 (44)	13 (52)	
Atypical antipsychotics	N/A	8 (32)	12 (48)	
Typical antipsychotics	N/A	2 (8)	0 (0)	
Antidepressants	N/A	7 (28)	7 (28)	
Benzodiazepines	N/A	2 (8)	7 (28)	

Table 2: *Clinical and pharmacological characteristics.*

HAMD-17 = Hamilton Depression Rating Scale; YMRS = Young Mania Rating Scale; FAST = Functioning Assessment Short Test; FAB = Frontal Assessment; Battery; N/A = Not Available; IQR = Interquartile Range; [a]: Mean (± SD); [b]: t test; [c]: Mann Whitney; [d]: Kruskal Wallis.

Evaluation of serum levels of neurotrophic factors

The serum assessment presented in table 3 and figure 1 and 2 of the neurotrophic factors GDNF and BDNF from the sample groups, are in the form of mean and standard deviation. Regarding the BDNF from bipolar patients in euthymia, it showed an improvement in the BDNF activity between the ≤ 3 years and ≥ 10 years groups, compared to the control group [$F(2,72) = 3668$; $p < 0.01$], but there were no significant changes between or within the groups regarding the GNDF [$F(2,72) = 1046$; $p = 0.25$].

Healthy Control n = 25		Bipolar patients ≤ 3 years n = 25	Bipolar patients ≥ 10 years n = 25	p-Value
Neurotrophic Factors				
GDNF (pg/mL) Means (± SD)	43.83 (± 51.25)	35.73 (±36.31)	26.44 (± 9.89)	0.25[a]
BDNF (pg/mL) Means (± SD)	15.61 (± 2.09)	16.94 (± 1.77)	16.72 (± 1.70)	**0.01[b]

Table 3: *Comparison of serum levels of Neurotrophic factors GDNF and BDNF in euthymic bipolar patients between the groups with ≤ 3 years and ≥ 10 years groups, since the disease onset compared to the healthy control group.*

Means ± standard deviation (SD). The normality of each variable was analyzed using theKolmogorov-Smirnov normality test.
*[a]To compare parametric variables between the three independent groups, the two-way analysis of variance (ANOVA) test followed by Tukey's test was used. [b]To compare non-parametric variables between the three independent samples, the Kruskal-Wallis test was used. Dunn's post hoc test was performed for pairwise comparisons, if the main effects were significant. Statistical significance was set at **p < 0.01 for all tests.*

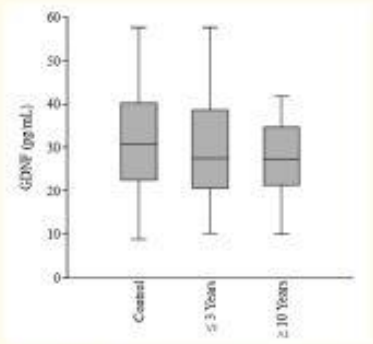


Figure 1: *Box plot - Comparison of serum levels of GDNF (pg/mL) of healthy control patients with euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.*

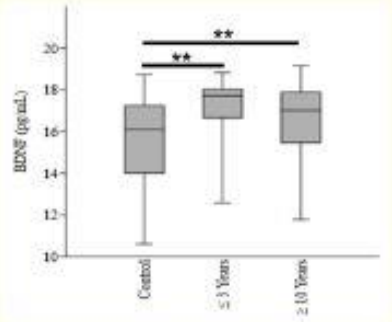


Figure 2: *Box plot - Comparison of serum levels of BDNF (pg/mL) of healthy control patients with euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.*

Evaluation of inflammatory mediator levels

Table 4 and figure 3-5 show the serum evaluation of IL-6, IL-10 and TNF-α of the sample groups, in the form of mean and standard deviation. Regarding inflammatory parameters, bipolar patients in euthymia did not show significant changes in TNF-α, IL -6 and IL-10, between and within the groups, $p < 0.05$.

	Control Patients n = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 years n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 years n= 25	*p* - Value
Inflammatory Mediators				
IL-6 (pg/mL) Means (± SD)	18.83 (± 7.94)	18.75 (± 7.48)	18.10 (± 9.19)	0.89[b]
TNF-α (pg/mL) Means (± SD)	33.81 (± 31.40)	24.60 (± 21.30)	19.59 (± 20.70)	0.18[b]
IL-10 (pg/mL) Means (± SD)	11.43 (± 12.82)	9.67 (± 7.08)	7.97 (± 6.48)	0.43[b]

Table 4: *Comparison of serum levels of inflammatory mediators IL-6, IL-10, and TNF-α in euthymic bipolar patients between the ≤ 3 years and ≥ 10 years groups, since the disease onset compared to the healthy control group.*

*Means ± standard deviation (SD). The normality of each variable was analyzed using the Kolmogorov-Smirnov normality test. [b]To compare non-parametric variables between the three independent samples, the Kruskal-Wallis test was used. Dunn's post hoc test was performed for pairwise comparisons, if the main effects were significant. Statistical significant was set at *p < 0.05.*

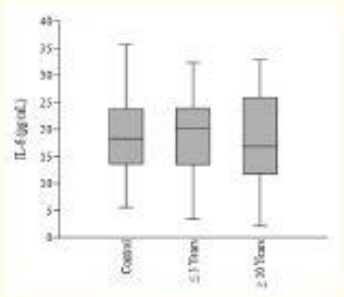


Figure 3: *Box plot - Comparison of serum levels of IL-6 (pg/mL) between the healthy control patients and the euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.*

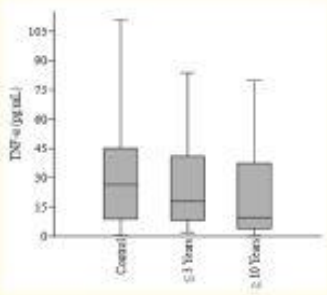


Figure 4: *Box plot - Comparison of serum levels of TNF-α (pg/mL) between the healthy control patients and the euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.*

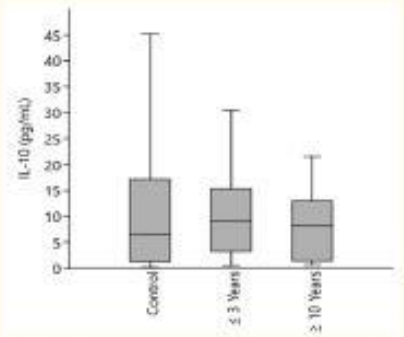


Figure 5: *Box plot - Comparison of serum levels of IL-10 (pg/mL) between the healthy control patients and the euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.*

Discussion

As described above, both peripheral and brain cells (astrocytes, oligodendrocytes, microglial cells, and neurons) are associated with the release of elevated pro/anti-inflammatory cytokines. The imbalance between them has been implicated in neuroinflammation, causing toxicity and apoptosis of neurons and glial cells [15], leading to neuroprogression in BD, as well as in other psychiatric disorders [16]. Post-mortem studies have shown an increase or decrease in several pro/anti-inflammatory factors in the prefrontal cortex, hippocampus, and cingulate gyrus of patients with BD, and similar to those seen in schizophrenia and major depression during the acute and chronic phases of the illness [17,18]. Studies point to an increase mainly in pro-inflammatory factors such as IL-1, IL-6, and TNF-α, resulting in an increased synaptic pruning and microglial phagocytosis [19-23]. On the other hand, numerous studies have shown that anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10, IL-13), increase the release of BDNF and inhibit the pro-inflammatory activity of microglia [24,25].

Recently, some studies have evaluated the circulation of inflammatory mediators during the different phases of BD as potential biomarkers for diagnosis or treatment. They showed an increase in serum, during the manic and depressive phases of IL-6, IL-1, IL-2, TNF-α, andTNFR1, when compared to controls and euthymic patients [26-28], while the concentration of anti-inflammatory IL-4 was significantly lower than in controls [3,6,29]. However, some studies were contradictory which found elevated IL-6 in mania and euthymia, but not in bipolar depression, and IL-1 levels were also significantly elevated during euthymia [29,30]. Other changes in these biomarkers were observed during the different phases after treatment. As an example, endogenous interleukin receptor antagonist (IL-1RA) levels were lower in the manic stage among chronic patients [31]. Also, the results from euthymic patients were conflicting, showing an imbalance between pro-inflammatory [32,33] and anti-inflammatory cytokines [26,32] or even showing no significant difference in the cytokine levels compared to the healthy controls [34,35].

These conflicting results are probably due to the different designs described in the various studies, where in some studies psychotropic drugs were included and not in others, different methodologies for measuring inflammatory mediators (ELISA, EIA and flow cytometry) were used, and finally, the inclusion and exclusion of certain patient's criteria were not very strict, including in the sample many patients with other inflammatory diseases or patients medicated or unmedicated for BD. In addition, research focused on different specifications of bipolar patients (Type I/II, cyclothymic, or without any distinction or specifications).

Thus, in our study, despite the control groups having higher means in the three mediators (IL-6, TNF-α, IL-10), which were measured and compared with the groups of euthymic patients with (≤ 3 years and ≥ 10 years since the onset of the disease), showed that there were no statistically significant changes between these different groups, as shown in the table 4. The lowest mean in the (≤ 3 years and ≥ 10 years) groups, about IL-6 and TNF-α, seems to agree with several studies in the research literature. A hypothesis that was raised for these results, was that all patients were euthymic for more than 6 months, and were continuously medicated, which would produce a decrease in pro-inflammatory cytokines. However, the results of IL-10 were inconclusive. The accentuated decreases found in both groups of euthymic patients related to the control group need a pathophysiological explanation, given that there should have been an increase in IL-10. One of the possibilities could be the low number of samples (n = 25) from each group, which were associated with a large standard deviation, and we might need to carry out a new study with a larger number of patients in the future.

The study of Kauer-SantÁnna., *et al.* (2009) [36] came the closest to ours. In it, the authors researched patients only with BD type I (our study included BD type I/II), which were not in an euthymic stage (in our study all patients were euthymic for more than 6 months). They studied patients with a diagnosis of < 3 years (n = 30), and > 10 years (n = 30) with the disease and compared to 60 control patients. Like our study, patients did not have significant comorbid medical conditions, they were not on medication other than those prescribed for their psychiatric condition, and all patients used psychotropic drugs. The result that they found was very different from ours. They found an increase in TNF-α, IL-6, and IL-10 mediators in the < 3 years group (n = 30) comparing with control group, and an increase in TNF-α, IL-6, but with no difference concerning IL-10 in the > 10 years group (n = 30) comparing to control group. They observed that when the levels were compared between patients in early and late-stages of the disease, there was a decrease in BDNF and IL-6 in late-stage BD compared to early-stage BD. On the other hand, TNF-α showed a significant increase in the later phase. Failure of inflammatory defenses in the late-stage of the disorder may be responsible for the reduction in BDNF and the continued elevation of cytokines; therefore, they may be related to neuroinflammation and neuroprogression in BD patients. Thus, they demonstrated a pro-inflammatory profile, which seemed to be more accentuated in individuals with longer duration of BD.

However, Berk., *et al.* (2011) [2] and Hamdani., *et al.* (2013) [8] reported that IL-10, which has an anti-inflammatory action, increased in the early stages of the disease, but decreased in the late stages. We found similar results, although they were not statistically significant. Our and their data was consistent with chronic progressive neuroinflammation, where a more significant number of previous episodes exhibit higher levels of TNF-α and IL-6 during all disease states, and when the patients are chronically treated the values of proinflammatory cytokines are controlled.

As for the neuroprotectors BDNF and GDNF, alterations in BDNF concentrations were observed in our research, but not in GDNF. Although GDNF is considered one of the most potent neurotrophic factors, and is widely found in different brain regions, its main functions are the development and maintenance of glial cells, and the nor adrenergic system in the brain [37]. However, Otsuki., *et al.* (2008) [38], quantified the serum concentrations of GDNF in 30 and 42 bipolar patients during different phases (mania, depression, and euthymia), where all of them were using psychotropic drugs. GDNF concentrations were lower in mood episodes (depression and mania) when compared to healthy controls ($p < 0.01$). However, no differences were observed between the euthymic groups of patients and the control group, which were the same results as ours.

In another study, Rosa., *et al.* (2006) [39], evaluated 44 euthymic bipolar patients and 60 unipolar depression patients, who were in remission but not medicated. They also found no significant differences when compared to healthy controls. Barbosa., *et al.* (2011) [40], studied 70 patients (35 euthymic and 35 in mania), and compared them with 50 control patients, showing no significant difference in plasma levels between the mania and control patients. However, when they compared euthymic patients with patients in the manic phase and control patients, there was a higher concentration of GDNF in the euthymic group ($p < 0.05$). In another study, Zhang., *et al.* (2015) [41], demonstrated that serum GDNF levels were reduced in patients during manic and depressive episodes, but after treatment with

mood stabilizers, they increased. Most of these studies are in line with our results, which demonstrated that during the euthymic phase, although we observed a slight decrease in the GDNF serum concentration in both the ≤ 3 years and ≥ 10 years groups, these were not significant in concerning the control group. However, when we compared the concentrations between the (≤ 3 years and ≥ 10 years) groups, despite not being significantly different, they showed that the ≥ 10 years group of the disease, had a lower concentration of GDNF serum levels than the ≤ 3 years group of the disease as shown in table 3. This raises the hypothesis that over time, even in euthymia, the body has difficulty maintaining GDNF levels close to normal levels. We must also consider that all of our patients were continuously using mood stabilizers, which could reinforce the idea that these drugs help to elevate GDNF concentrations in euthymic patients.

Regarding BDNF, as it is the most intensely distributed neurotrophin in the central nervous system [42], with the ability to regulate several biological functions such as neuroplasticity, axonal growth, neuronal apoptosis, and to be present in the local response to various neuronal and environmental stressors [43]. Serum BDNF concentrations can change due to various pathologies, such as epileptic seizures and cerebral hypoxia [44]. Regarding neuropsychiatric diseases, especially BD, we observed large variability in terms of results. Studies with patients in mania found decreases in BDNF serum levels compared to controls [45]; [46]. However, when patients reached euthymia, they showed improvement in BDNF serum levels, not differing from controls [45].

However, Palomino., *et al.* (2006) [47] and Tunçel., *et al.* (2020) [48] followed patients from their first manic episode with a psychotic condition for one year, using mood stabilizers. The researchers observed elevations in plasma levels associated with clinical improvement. Furthermore, plasma levels remained lower compared to controls. Researchers linked the improvement to the use of mood stabilizers. Also, using a model of mania in Wistar rats, through the use of amphetamine for 7 days, an increase in BDNF levels in the hippocampus was observed, but these were later treated with mood stabilizers (lithium and valproate), and the BDNF levels increased again [49,50]. Finally, Machado-Vieira., *et al.* (2007) [51], described a negative correlation between BDNF levels and the intensity of depressive and manic symptoms in non-medicated patients.

Regarding euthymic patients, Binici., *et al.* (2016) [52], observed that there were no changes in serum levels between euthymic patients and healthy control patients. Interestingly, Kauer-Sant'Anna., *et al.* (2009) [36] observed that euthymic bipolar patients with less than 3 years of the disease did not show any change in BDNF serum levels. However, the group that had the disease for more than 10 years, showed a decrease in serum levels compared to controls. Another interesting study was by Tseng., *et al.* (2008) [53], where the researchers evaluated the production of BDNF in a lymphocyte population in 12 euthymic bipolar patients during 3 years, which were on lithium monotherapy, and then compared them with 14 family members without psychiatric illnesses, as well as 13 healthy controls. The researchers observed that lymphocytes from bipolar patients had a decrease in BDNF serum levels when compared to the other groups.

In our study, all patients have been euthymic for 6 months, longer than the average time of other studies, and all patients were medicated for a longer period as well. Thus, we observed a significant increase in BDNF levels both in the ≤ 3 years and ≥ 10 years groups with the disease, compared to the control group. However, when we compared only the two groups of euthymic bipolar patients alone, we did not observe any significant changes. It corroborates with the idea that euthymic and treated patients present an improvement in clinical response and neuronal organization. When the patient is treated since the beginning of the disease, i.e. < 3 years, it is clear that the BDNF serum levels are already improving. Thus, early diagnosis and treatment seem to be advantageous for patients, and our results are in line with studies carried out by Duman and Monteggia (2006) [54], and Banasr and Duman (2008) [55].

In these studies, the authors demonstrated that psychopharmaceuticals such as lithium and valproate, used continuously in the treatment of BD, could act on neurotrophins, modulating their signaling pathways and increase their levels in the frontal cortex and hippocampus, as observed in other studies [49,56,57]. However, several studies have shown a decrease in the levels of BDNF and its receptors TrkB (tropomyosin kinase receptor), both in the blood and in the brain of bipolar patients when untreated [58-61].

If we analyze these results in light of cognitive and functional alterations, we can observe that they have been present since the beginning. Thus, studies such as Rybakowski., *et al.* (2003) [62] demonstrated a significant relationship between the performance involving the frontal cortex of bipolar patients, and neuronal damage with cognitive impairment, where the BDNF pathway played a key role in BD [60,61,63]. In summary, there are still only a few studies evaluating BDNF concentrations in bipolar patients during their different phases, and the results are still conflicting and inconclusive. This might be due to the great variability of characteristics of these patients, contributing to the incorrect conclusions of the role of BDNF and other neurotrophins in BD.

Thus, we can hypothesize that bipolar patients have a neuroinflammatory process in the brain since the first episodes of mania and depression. All these events involve a pathological reorganization in the brain, and therefore, are associated with morphological changes, such as reduced volume in the cortex and white matter, mainly in the prefrontal cortex, leading to cognitive and functional losses since the beginning, emphasizing the core of our study [64-66]. These prefrontal cortex changes are possible due to multiple episodes of mania and depression during their lifetime. In addition, the number of hospitalizations and the duration of illness in bipolar patients, can also have an impact on their neurocognitive performance, impacting their daily functionality and psychosocial aspects [67-70].

The prefrontal cortex is a heterogeneous region consisting of several specialized subregions, which communicates with the entire brain, receiving and sending projections of all kinds [65,66,71,72]. Through neuroimaging, it was possible to differentiate the areas of the prefrontal cortex, which are responsible for the different components of cognitive functions, in three main regions: the orbitofrontal, the ventromedial, and the dorsolateral. Each region has specific functions, and any neurofunctional alteration causes harm with behavioral and clinical changes [73-75]. Impairments in executive functions, impulsivity, and apathy, for example, are characteristics of dysfunctions in the frontal-subcortical circuit and neuropsychiatric disorders, such as obsessive-compulsive disorder, schizophrenia, and in BD [76-80].

Conclusion

The conclusions that we can infer, are that the results raised and analyzed so far, reinforce the hypothesis of neuroprogression and neuroinflammation developed and described by several researchers, especially during acute mood episodes. Together, these changes have been associated with systemic toxicity of the disease and damage, resulting from multiple episodes. Recurrence of mood episodes in BD usually produce worse outcomes; producing functional and cognitive impairments, and decreased responsiveness to treatment.

The pro-inflammatory state present in the mania and depression phases appears to stabilize during euthymia, in part due to the use of mood stabilizers. Among neurotrophins, consistent evidence proposes a possible role for BDNF in the pathophysiology of BD, where its levels are reduced during manic and depression episodes and the use of mood stabilizers can increase levels of neuroprotective during euthymia. Regarding neurotrophic factors, we can observe an improvement in the values in euthymic patients, especially relating to BDNF. This reinforces previous studies in which mood stability during euthymia improves dendritic formation capacity, and neuronal and glial cell viability. Ultimately, this suggests that systemic toxicity, when controlled, can improve the conditions of these cells, reinforcing the idea that the use of medication offers the patient a better quality of life.

Thus, the concepts of neuroinflammation and neuroprogression explains the clinical symptoms well, but it is still not possible to know whether all these changes are a cause or a consequence of the disease. More consistent evidence will require the monitoring of patients for several years, with laboratory tests, imaging, and neuropsychological tests from time to time, to assess the evolution of the problem. Although far from being proven, this proposal is opening the way for the search for more specific and efficient therapies, and for the development of strategies that allow the early identification of people at risk of developing this disease.

Conflict of Interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

Citation: Luiz Arthur Rangel Cyrino., *et al.* "Effect of Cytokines and Neurotrophins in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease". *EC Neurology* 14.2 (2022): 16-31.

Authors' Contributions

LARC; DDL; SAR; OMU; YM; preparation, acquisition, study design, data collection and writing; GKF; DDM: analysis of statistical data and review; DDL; LARC; GKF: final review.

Acknowledgements

This work was supported by grants from Universidade da Região de Joinville and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq (Brazil).

Bibliography

1. Price AL and Marzani-Nissen GR. "Bipolar disorders: a review". *American Family Physician* 85.5 (2012): 483-493.
2. Berk M., *et al.* "Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors". *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35.3 (2011): 804-817.
3. Sigitova E., *et al.* "Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder". *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 71 (2017): 77-103.
4. Szepesi Z., *et al.* "Bidirectional microglia-neuron communication in health and disease". *Frontiers in Cellular Neuroscience* 12 (2018): 323.
5. Rosa AR., *et al.* "Functional impairment and disability across mood states in bipolar disorder". *Value in Health* 13.8 (2010): 984-988.
6. Rowland T., *et al.* "Neurotrophins, cytokines, oxidative stress mediators and mood state in bipolar disorder: systematic review and meta-analyses". *British Journal of Psychiatry* 213 (2018): 514-525.
7. Maes M., *et al.* "Multiple aberrations in shared inflammatory and oxidative and nitrosative stress (IO&NS) pathways explain the co-association of depression and cardiovascular disorder (CVD): and the increased risk for CVD and due mortality in depressed patients". *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 35.3 (2011): 769-783.
8. Hamdani N., *et al.* "Immunity, inflammation, and bipolar disorder: diagnostic and therapeutic implications". *Current Psychiatry Reports* 15 (2013): 387.
9. Miller AH., *et al.* "Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression". *Biological Psychiatry* 65.9 (2009): 732-741.
10. Leonard BE. "The concept of depression as a dysfunction of the immune system". *In Depression: From Psychopathology to Pharmacotherapy* 27 (2010): 53-71.
11. Kapczinski F., *et al.* "Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment". *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 32.4 (2008): 675-692.
12. Berk M. "Neuroprogression: pathways to progressive brain changes in bipolar disorder". *International Journal of Neuropsychopharmacology* 12.4 (2009): 441-445.
13. Young AH and Juruena MF. "Bipolar Disorder: From Neuroscience to Treatment". *Current Topics in Behavioral Neurosciences Springer, Cham* 48 (2020).
14. Hamilton M. "A rating scale for depression". *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 23.1 (1960): 56.

Citation: Luiz Arthur Rangel Cyrino., *et al.* "Effect of Cytokines and Neurotrophins in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease". *EC Neurology* 14.2 (2022): 16-31.

15. Muneer A. "Bipolar disorder: role of inflammation and the development of disease biomarkers". *Psychiatry Investigation* 13 (2016): 18-33.

16. Zhang X., *et al.* "Role of astrocytes in major neuropsychiatric disorders". *Neurochemical Research* (2021): 1-16.

17. Sneeboer MAM., *et al.* "Microglia in post-mortem brain tissue of patients with bipolar disorder are not immune activated". *Translational Psychiatry* 9 (2019): 153.

18. Momtazmanesh S., *et al.* "Cytokine alterations in schizophrenia: an updated review". *Frontiers in Psychiatry* 10 (2019): 892.

19. Sochocka M., *et al.* "Inflammatory response in the CNS: friend or foe?" *Molecular Neurobiology* 54 (2017): 8071-8089.

20. Forrest MP., *et al.* "Dendritic structural plasticity and neuropsychiatric disease". *Nature Reviews Neuroscience* 19 (2018): 215-234.

21. Liu CY., *et al.* "Pharmacological targeting of microglial activation: new therapeutic approach". *Frontiers in Cellular Neuroscience* 13 (2019): 514.

22. Kany S., *et al.* "Cytokines in inflammatory disease". *International Journal of Molecular Sciences* 20 (2019): 6008.

23. Pawluk H., *et al.* "The role of selected pro-inflammatory cytokines in pathogenesis of ischemic stroke". *Clinical Interventions in Aging* 15 (2020): 469-484.

24. Milan-Mattos JC., *et al.* "Effects of natural aging and gender on pro-inflammatory markers". *The Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 52 (2019): e8392.

25. Formanova PP., *et al.* "Changes in cytokine and chemokine profiles in mouse serum and brain and in human neural cells, upon tick-borne encephalitis virus infection". *Journal of Neuroinflammation* 16 (2019): 205.

26. Brietzke E., *et al.* "Comparison of cytokine levels in depressed, manic and euthymic patients with bipolar disorder". *Journal of Affective Disorders* 116 (2009): 214-217.

27. Modabbernia A., *et al.* "Cytokine alterations in bipolar disorder: a meta-analysis of 30 studies". *Biological Psychiatry* 74 (2013): 15-25.

28. Luo Y., *et al.* "Altered serum levels of TNF-a, IL-6 and IL-18 in manic, depressive, mixed state of bipolar disorder patients". *Psychiatry Research* 244 (2016): 19-23.

29. Goldsmith DR., *et al.* "A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression". *Molecular Psychiatry* 21 (2016): 1696-1709.

30. Uyanik V., *et al.* "Assessment of cytokine levels and hs-CRP in bipolar I disorder before and after treatment". *Psychiatry Research* 228 (2015): 386-392.

31. Jacoby AS., *et al.* "Cytokines, brain-derived neurotrophic factor and C-reactive protein in bipolar I disorder-results from a prospective study". *Journal of Affective Disorders* 197 (2016): 167-174.

32. Hope S., *et al.* "Affective symptoms are associated with markers of inflammation and immune activation in bipolar disorders but not in schizophrenia". *Journal of Psychiatric Research* 45.12 (2011): 1608-1616.

33. Cetin T., *et al.* "Plasma concentrations of soluble cytokine receptors in euthymic bipolar patients with and without subsyndromal symptoms". *BMC Psychiatry* 12.1 (2012): 1-7.

Citation: Luiz Arthur Rangel Cyrino., *et al.* "Effect of Cytokines and Neurotrophins in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease". *EC Neurology* 14.2 (2022): 16-31.

34. Remlinger-Molenda A., *et al.* "Selected cytokine profiles during remission in bipolar patients". *Neuropsychobiology* 66.3 (2012): 193-198.

35. Brietzke E and Teixeira A. "Similar immune profile in bipolar disorder and schizophrenia: selective increase in soluble tumor necrosis factor receptor I and von Willebrand factor". *Bipolar Disorders* 12.4 (2010): 453-454.

36. Kauer-Sant'Anna M., *et al.* "Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder". *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 12 (2009): 447-458.

37. Ducray A., *et al.* "GDNF family ligands display distinct action profiles on cultured GABAergic and serotonergic neurons of rat ventral mesencephalon". *Brain Research* 1069.1 (2006): 104-112.

38. Otsuki K., *et al.* "Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression". *Journal of Psychiatric Research* 42 (2008): 1145-1153.

39. Rosa AR., *et al.* "Increased serum glial cell line-derived neurotrophic factor immunocontent during manic and depressive episodes in individuals with bipolar disorder". *Neuroscience Letters* 407.2 (2006): 146-150.

40. Barbosa IG., *et al.* "Circulating levels of GDNF in bipolar disorder". *Neuroscience Letters* 502.2 (2011b): 103-106.

41. Zhang XY., *et al.* "The interplay between BDNF and oxidative stress in chronic schizophrenia". *Psychoneuroendocrinology* 51 (2015): 201-208.

42. Murer MG., *et al.* "Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease". *Progress in Neurobiology* 63.1 (2001): 71-124.

43. Qian L., *et al.* "Brain-derived neurotrophic factor and risk of schizophrenia: an association study and meta-analysis". *Biochemical and Biophysical Research Communications* 353.3 (2007): 738-743.

44. Marini AM., *et al.* "Preconditioning and neurotrophins: a model for brain adaptation to seizures, ischemia and other stressful stimuli". *Amino Acids* 32.3 (2007): 299-304.

45. Tramontina JF., *et al.* "Brain-derived neurotrophic factor serum levels before and after treatment for acute mania". *Neuroscience Letters* 452.2 (2009): 111-113.

46. Munkholm K., *et al.* "Peripheral blood brain-derived neurotrophic factor in bipolar disorder: a comprehensive systematic review and meta-analysis". *Molecular Psychiatry* 21.2 (2016): 216-228.

47. Palomino A., *et al.* "Decreased levels of plasma BDNF in first-episode schizophrenia and bipolar disorder patients". *Schizophrenia Research* 86.1-3 (2006): 321-332.

48. Tunçel ÖK., *et al.* "Neurotrophic factors in bipolar disorders patients with manic episode". *Turkish Journal of Medical Sciences* 50.4 (2020): 985-993.

49. Frey BN., *et al.* "Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania". *Life Sciences* 79.3 (2006): 281-286.

50. Tunca Z., *et al.* "Alterations in BDNF (brain derived neurotrophic factor) and GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) serum levels in bipolar disorder: the role of lithium". *Journal of Affective Disorders* 166 (2014): 193-200.

51. Machado-Vieira R., *et al.* "Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode". *Biological Psychiatry* 61.2 (2007b): 142-144.

52. Binici NC., *et al.* "Serum brain-derived neurotrophic factor levels among euthymic adolescents with bipolar disorder type I". *Archives of Neuropsychiatry* 53.3 (2016): 267.

53. Tseng M., *et al.* "BDNF protein levels are decreased in transformed lymphoblasts from lithium-responsive patients with bipolar disorder". *Journal of Psychiatry and Neuroscience: JPN* 33.5 (2008): 449.

54. Duman RS and Monteggia LM. "A neurotrophic model for stress-related mood disorders". *Biological Psychiatry* 59.12 (2006): 1116-1127.

55. Banasr M and Duman RS. "Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors". *Biological Psychiatry* 64.10 (2008): 863-870.

56. Jornada LK., *et al.* "Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain". *Journal of Psychiatric Research* 44.8 (2010): 506-510.

57. Paul P., *et al.* "Lithium response in bipolar disorder correlates with improved cell viability of patient derived cell lines". *Scientific Reports* 10.1 (2020): 1-10.

58. Matsumoto T., *et al.* "Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF". *Nature Neuroscience* 11.2 (2008): 131-133.

59. Kapczinski F., *et al.* "Clinical implications of a staging model for bipolar disorders". *Expert Review of Neurotherapeutics* 9.7 (2009): 957-966.

60. Ray MT., *et al.* "Decreased BDNF, trkB-TK+ and GAD67 mRNA expression in the hippocampus of individuals with schizophrenia and mood disorders". *Journal of Psychiatry and Neuroscience: JPN* 36.3 (2011): 195.

61. Huang TL., *et al.* "Serum protein levels of brain-derived neurotrophic factor and tropomyosin-related kinase B in bipolar disorder: effects of mood stabilizers". *Neuropsychobiology* 65.2 (2012): 65-69.

62. Rybakowski JK., *et al.* "Polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene and performance on a cognitive prefrontal test in bipolar patients". *Bipolar Disorders* 5.6 (2003): 468-472.

63. Soontornniyomkij B., *et al.* "Tyrosine kinase B protein expression is reduced in the cerebellum of patients with bipolar disorder". *Journal of Affective Disorders* 133.3 (2011): 646-654.

64. Beyer JL., *et al.* "Cortical white matter microstructural abnormalities in bipolar disorder". *Neuropsychopharmacology* 30.12 (2005): 2225-2229.

65. Abé C., *et al.* "Manic episodes are related to changes in frontal cortex: a longitudinal neuroimaging study of bipolar disorder 1". *Brain* 138.11 (2015): 3440-3448.

66. Szmulewicz A., *et al.* "Longitudinal analysis of cognitive performances in recent-onset and late-life Bipolar Disorder: A systematic review and meta-analysis". *Bipolar Disorders* 22.1 (2020): 28-37.

67. McEwen BS and Gianaros PJ. "Stress and allostasis-induced brain plasticity". *Annual Review of Medicine* 62 (2011): 431-445.

Citation: Luiz Arthur Rangel Cyrino., *et al.* "Effect of Cytokines and Neurotrophins in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease". *EC Neurology* 14.2 (2022): 16-31.

68. Grande I., *et al.* "Mediators of allostasis and systemic toxicity in bipolar disorder". *Physiology and Behavior* 106.1 (2012): 46-50.

69. Fagiolini A., *et al.* "Prevalence, chronicity, burden and borders of bipolar disorder". *Journal of Affective Disorders* 148.2-3 (2013): 161-169.

70. Mwangi B., *et al.* "Individualized prediction and clinical staging of bipolar disorders using neuroanatomical biomarkers". *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging* 1.2 (2016): 186-194.

71. Goodkind M., *et al.* "Identification of a common neurobiological substrate for mentalillness". *JAMA Psychiatry* 72.4 (2015): 305-315.

72. Miller BL and Cummings JL. "The human frontal lobes: Functions and disorders". *Guilford Publications* (2017).

73. Power JD., *et al.* "Functional network organization of the human brain". Neuron 72.4 (2011): 665-678.

74. Arnsten AF and Rubia K. "Neurobiological circuits regulating attention, cognitive control, motivation, and emotion: disruptions in neurodevelopmental psychiatric disorders". *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 51.4 (2012): 356-367.

75. Yang T., *et al.* "The association of duration and severity of disease with executive function: differences between drug-naive patients with bipolar and unipolar depression". *Journal of Affective Disorders* 238 (2018): 412-417.

76. Hoffmann M. "The human frontal lobes and frontal network systems: an evolutionary, clinical, and treatment perspective". *International Scholarly Research Notices* (2013).

77. Pellecchia MT., *et al.* "Cognitive performances and DAT imaging in early Parkinson's disease with mild cognitive impairment: a preliminary study". *Acta Neurologica Scandinavica* 131.5 (2015): 275-281.

78. Brugger F., *et al.* "Do executive dysfunction and freezing of gait in Parkinson's disease share the same neuroanatomical correlates?" *Journal of the Neurological Sciences* 356.1-2 (2015): 184-187.

79. Hurtado-Pomares M., *et al.* "The frontal assessment battery in clinical practice: a systematic review". *International Journal of Geriatric Psychiatry* 33.2 (2018): 237-251.

80. Yang T., *et al.* "Exploring the Effects of Temperament on Gray Matter Volume of Frontal Cortex in Patients with Mood Disorders". *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 17 (2021): 183.

Volume 14 Issue 2 February 2022
© All rights reserved by Luiz Arthur Rangel Cyrino., *et al.*

5.5. ARTIGO 5

Can Mood-Stabilizing Agents Increase the Activity of Complexes I and II of the Electron Transport Chain and the Level of Two Tricarboxylic Acid Cycle Enzymes in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease?

Luiz Arthur Rangel Cyrino*; Daniela Delwing-de Lima; Gislaine Tezza Rezin; Gabriela Kozuchovski Ferreira; Silvia Aparecida Ramos; Débora Delwing-Dal Magro; Natalia Cavichioli; Oliver Matheus Ullmann; Yasmin Mayer; Mariana Pacheco de Oliveira; Larissa Espindola da Silva.

Artigo *em revisão* na revista *Psychiatry and Clinical Neuroscience*
Encaminhado em dez 2021

(Qualis Interdisciplinar A2)

PCN Psychiatry and Clinical Neurosciences

Can Mood-Stabilizing Agents Increase the Activity of Complexes I and II of the Electron Transport Chain and the Level of Two Tricarboxylic Acid Cycle Enzymes in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease?

Journal:	*Psychiatry and Clinical Neurosciences*
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Regular Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	CYRINO, LUIZ; Univille Delwing-de Lima, Daniela; Univille Rezin, Gislaine; Universidade do Sul de Santa Catarina - Campus Tubarao Ferreira, Gabriela; UNISOCIESC Centro Universitário Tupy Ramos, Silvia; Univille Magro, Debora; Universidade Regional de Blumenau Cavichioli, Natalia ; Universidade Regional de Blumenau Ullmann, Oliver; Univille Mayer, Yasmin; Univille Oliveira, Mariana ; Universidade do Sul de Santa Catarina - Campus Tubarao da Silva, Larissa; Universidade do Sul de Santa Catarina - Campus Tubarao
Keywords:	Bipolar Disorder, Neuroinflammation, Energy Metabolism,, Tricarboxylic Acid Cycle,, Electron Transport Chain

SCHOLARONE™
Manuscripts

Can Mood-Stabilizing Agents Increase the Activity of Complexes I and II of the Electron Transport Chain and the Level of Two Tricarboxylic Acid Cycle Enzymes in Euthymic Bipolar Patients during the Early and Late Stages of the Disease?

Luiz Arthur Rangel Cyrino*[1,2,3]; Daniela Delwing-de Lima[1,4]; Gislaine Tezza Rezin[5]; Gabriela Kozuchovski Ferreira[6]; Silvia Aparecida Ramos[2]; Débora Delwing-Dal Magro[7]; Natalia Cavichioli[8]; Oliver Matheus Ullmann[3]; Yasmin Mayer[3]; Mariana Pacheco de Oliveira[5]; Larissa Espindola da Silva[5].

[1] Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade da Região de Joinville– UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, 10 - Zona Industrial Norte, Joinville, SC CEP 89201-972, Brasil

[2] Departamento de Farmácia, Universidade da Região de Joinville UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, 10 - Zona Industrial Norte, Joinville, SC CEP 89201-972, Brasil

[3] Departamento de Psicologia, Universidade da Região de Joinville UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, 10 - Zona Industrial Norte, Joinville, SC CEP 89201-972, Brasil

[4] Departamento de Medicina, Universidade da Região de Joinville UNIVILLE, Rua Paulo Malschitzki, 10 - Zona Industrial Norte, Joinville, SC CEP 89201-972, Brasil

[5] Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos, programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, Santa Catarina, Brasil

[6] Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, UNISOCIESC, Joinville, Santa Catarina, Brasil

[7] Departamento de Ciências Naturais, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Regional de Blumenau, Rua Antônio da Veiga, 140, Blumenau, SC CEP 89012-900, Brasil

[8] Departamento de Biomedicina, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Regional de Blumenau, Rua Antônio da Veiga, 140, Blumenau, SC CEP 89012-900, Brasil

*** Corresponding Author: Luiz Arthur Rangel Cyrino, MD, Departamento de Farmácia e Psicologia; Pós-graduação em Saúde e Meio Ambiente Universidade da Região de Joinville – Univille. Hospital Psiquiátrico Porto Seguro – Curitiba - Brasil.**
e-mail 3657luizrangel@gmail.com **Fone – 47 996634887 Rua Princesa Isabel 238 – 414 CEP 89201904**

For Review Only

Abstract

Objective: Bipolar disorder (BD) is associated with changes in biomarkers and mood episodes, leading to neurological damage, which may reflect alterations in cognitive functions and functionality. We analyzed the effect of four biomarkers related to metabolic energy in leukocytes. Two enzymes are related to the tricarboxylic acid **(TCA)** cycle (citrate synthase and succinate dehydrogenase), and two proteins are related to electron transport chain **(ETC)** (complexes I and II). **Methods**: We studied 50 euthymic patients divided into two subgroups with 25 patients (≤ 3 years and ≥ 10 years of diagnosis, from the first episode of mania) and 25 control patients. All the patients were using mood stabilizers. **Results**: There were no changes in the levels of TCA cycle enzymes in the leukocytes in any subgroup. However, complex I activity showed a significant increase in patients ≤ 3 years (461.80±162.76) and ≥ 10 years (561.21±328.13) since disease onset compared to the control group (335.39±167.64) (***p*<0.01**). Complex II activity was significantly increased in the ≥ 10 years (3.42±1.38) group compared to the ≤ 3 years (2.66±1.17) group and the control group (2.43±0.95) (***p*<0.01**). **Conclusions**: These results suggest that stabilizing medications improve the activity of ETC complexes and stabilize TCA cycle enzymes.

Keywords – Bipolar Disorder, Mitochondria, Electron Transport Chain, Tricarboxylic Acid Cycle, Energy Metabolism, Neuroinflammation.

For Review Only

1. Introduction

Psychiatry has made significant scientific advances in the last three decades. However, it is still necessary to clarify several aspects of the pathophysiological basis of bipolar disorder (BD). This disease is highly complex, multifactorial in character, determined by the interaction between genetic, environmental, and systemic factors, and has been associated with systemic toxicity, compromising not only the central nervous system but also other peripheral physiological systems. This toxicity occurs due to alterations in inflammatory biomarkers, oxidative stress mediators, neurotrophins, and energy metabolism. These biomarkers show differences between patients in the early and late stages of the disease [1]. In addition, BD patients in the acute phases of the disease have been observed to have a significantly higher systemic toxicity rate than healthy controls but a lower systemic toxicity rate than sepsis patients [2]. All of them seem to be related to mood episodes, leading to microglial activation and causing neural damage. These alterations in neuroplasticity are reflected in synapses and in particular, in the formation and expression of dendritic spines, as well as in various neurotransmission systems, which can therefore be reflected in cognitive functions and functionality, leading to disease progression [3]. Although biomarkers related to mitochondrial energy function are still poorly studied, evidence suggests an important role of mitochondrial dysfunction in BD, producing altered energy metabolism, changes in electron transport chain (ETC) enzymes, altered levels of cytoplasmic calcium, and changes in the activation of mitochondrial genes. The influx of calcium from the cytosol controls the rate of mitochondrial ATP production. Intramitochondrial calcium activates four dehydrogenases coupled to the TCA cycle: citrate synthase, pyruvate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, and α-ketoglutarate dehydrogenase. In addition, calcium uptake modulates the spatial and temporal profile of intracellular calcium signaling, regulating mitochondrial motility and morphology, which can lead to cell death [4][5]. Changes in lactate concentrations were also significantly higher in BD patients than in controls, indicating increased mitochondrial metabolism and anaerobic glucose utilization, which is consistent with altered mitochondrial metabolism in BD. Mitochondrial dysfunction involving ETC disruption is considered the main cause of chronic oxidative stress in BD, resulting in damage to lipids, proteins, and cell membrane DNA, which further aggravates oxidative stress, creating a cycle-perpetuating pathogen contributing to a chronic neuroinflammation process. Thus, studies have contributed to the understanding of these mechanisms, partially explaining the toxicity related to cumulative mood episodes in BD [6]. Therefore, this article aimed to study two enzymes of the TCA cycle (citrate synthase and succinate dehydrogenase) and the activity of mitochondrial complexes (I, II) of the ETC in leukocytes from euthymic bipolar patients with $\leq$ 3 years and $\geq$ 10 years of disease compared to healthy control patients and to relate the possible mechanisms responsible for energy metabolism in BD, focusing on neuroinflammation.

For Review Only

2. Materials and Methods

2.1. Ethics

This study was approved by the Research Ethics Committee of Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE (protocol number 655.037) and followed the ethical rules of the Helsinki Declaration of 1975. All participants provided written informed consent before entering the study. Each patient underwent a clinical and psychiatric evaluation, where demographic, anthropometric, pharmacological data and clinical variables were collected.

2.2. Participants

The study evaluated 50 outpatients with BD types I/II in euthymia. The participants were divided into three distinct groups, each with 25 individuals: 25 euthymic BD patients in the early stage of disease (≤ 3 years since the diagnosis of BD from the first manic episode); 25 euthymic BD patients in the late stage of disease (≥ 10 years since the diagnosis of BD from the first manic episode); and 25 healthy controls. Bipolar patients were recruited from the Porto Seguro Psychiatric Hospital, located in the city of Curitiba, Brazil, and the healthy control group was selected among hospital staff. The psychiatric diagnosis of BD patients for types I/II was defined in the Manual Diagnosis and Statistics of Mental Disorders (DSM-V) and confirmed by a semi-Structured Clinical Interview, according to DSM-V (SCID-5-CV). Manic and depressive symptoms were assessed using the Young Mania Rating Scale (YMRS) **Young *et al.*, (1978)**[7], and the 17-item version of the Hamilton Depression Rating Scale (HAMD-17) **Hamilton, (1960)**[8], respectively. With the HAMD-17 scale, depressive symptoms that had occurred within the last week were evaluated, and in the YMRS, manic symptoms that had presented themselves within the last 48 h were evaluated. The cutoff scores used in the study were YMRS > 7 as indicative of mania and HAMD-17 > 7 as indicative of depression.

2.3. Criteria

The inclusion criteria of bipolar patients in the euthymic stage were as follows: (a) the patients had been in the euthymic phase for at least six months; (b) active age (18 - 60 years); (c) no history of neurodegenerative diseases, cancer, morbid obesity or trauma; (d) none of the patients had a history of addiction or substance abuse in the last year; (e) not pregnant or breastfeeding; (f) nonsmokers; (g) patients had no significant comorbid medical conditions and did not receive medication in addition to those prescribed for their psychiatric condition; these patients should have been used for at least four weeks; and (h) patients were able to understand the procedures and protocol and provided written informed consent and did not present cognitive impairment with disability or dementia or physical disabilities, e.g., visual or hearing impairments.

2.4. *In vivo* studies

For Review Only

2.4.1. Leukocyte preparation

To analyze the energy metabolism enzymes citrate synthase, succinate dehydrogenase, complex I and complex II, 20 mL of peripheral blood was taken from each individual by venipuncture in a vacuum tube with heparin. The blood was centrifuged at 1000 x g for 30 minutes, and the leukocytes were separated using a Ficoll gradient (Sigma)[9]. The leukocytes were then transferred to another tube, where they were washed twice with phosphate buffered saline (PBS) and centrifuged at 1300 x g for 10 minutes. After centrifugation, PBS and dimethyl sulfoxide (DMSO) <0.01% were added to the samples, which were progressively frozen at -10°C for 30 minutes, at -20°C for 30 minutes, and frozen at -80°C until the assay. All samples were assessed in duplicate.

2.4.2 Citrate synthase assay

The citrate synthase levels were determined using spectrophotometry according to the method described by **Alp *et al.* (1976)** [10]. Homogenized leukocytes (10 µL) were added to a cuvette with 800 µL buffer (Tris-HCl 1 M, pH 8), 100 µL DTNB 1 mM, 40 µL acetyl-COA 2.5 mM and 10 µL Triton 10%. The reaction was started by the addition of 50 µL of oxaloacetate (4 mM) and watching the changes in absorbance for 3 minutes at 412 nm.

2.4.3 Succinate Desidrogenase assay

The succinate desidrogenase levels were determined using spectrophotometry according to the method described by **Fischer *et al.* (1985)**[11]. SDH and complex II (CII) activities of succinate: phenazine oxyreductase (soluble SDH) and complex II (succinate: DCIP oxyredutase) were measured in leukocyte homogenates by following the decrease in absorbance due to the reduction of 2,6-dichloroindophenol (DCIP) at 600 nm with 700 nm as the reference wavelength (ε=19.1 mM-1 cm-1) in the presence of phenazine methasulphate (PMS). The reaction mixture, consisting of 40.0 mM potassium phosphate, pH 7.4, 16.0 mM succinate and 8 µM DCIP, was preincubated with 40-80 µg homogenate protein at 30°C for 20 min. Subsequently, for complex II activity, 4.0 mM sodium azide and 7 µM rotenone were added, and the reaction was initiated by the addition of 40 µM DCIP and monitored for 5 min. The activity of SDH was assessed in the same incubation medium by the addition of 1.0 mM PMS and monitored for 5 min.

2.4.4 Complex I and II assay

Complex I was determined using spectrophotometry according to the method described by **Cassina and Radi (1996)**[12] . Complex I activity was measured by determining the NADH-dependent ferrocyanide reduction rate, monitored in a spectrophotometer at 420 nm, and the specific activity is reported by nmol units of Complex I per min per milligram of protein and was measured by the **Lowry *et al.* (1951)**[13] method, using serum bovine albumin as a standard.

For Review Only

. Complex II was determined using spectrophotometry according to the method described by **Fischer *et al.* (1985)**[11]. The Complex II activity was measured following the decrease in absorbance due to the reduction of 2,6-DCIP, monitored in a spectrophotometer at 600 nm, and specific activity is reported in nmol units of Complex II per min per milligram of protein was measured by **Lowry *et al.* (1951)**[13] method, using serum bovine albumin as standard.

2.5. Statistical analysis

Demographic and clinical variables were analyzed using descriptive statistics, including (mean) and (standard deviation) for quantitative variables and absolute frequency (n) and relatives (%), for qualitative variables with a confidence interval of 95% in both cases. For the qualitative nominal and ordinal data, we used the chi-square test ($\chi 2$) of Pearson, and for two or more groups, we used Fisher's exact test. Parametric and nonparametric tests were used for the analysis of qualitative variables. The assumption of normality and homoscedasticity of each variable was analyzed with the Kolmogorov-Smirnov normality test and Levene's test, respectively. For comparisons of parametric variables between two groups, Student's *t*-test was used, and for more than two groups, Tukey's test of analysis of variance (ANOVA) was used. To compare nonparametric variables between two and three independent samples, Mann-Whitney tests and Kruskal-Wallis tests were used. Dunn's post hoc test was performed for peer comparisons if the main effects were significant. The SPSS software program (SPSS Inc., Chicago, USA) was used. To calculate the statistical power analyses, we used the program G*Power 3.1. Statistical significance was set at $p < 0.05$ for all tests, or a level of significance of 5% was adopted to reject the null hypotheses.

3.0 Results

3.1 Demographic, Clinical and Pharmacological Characteristics

We evaluated the demographic and clinical characteristics of the different groups studied. Fifty patients with BD were divided into two groups of euthymic patients (≤ 3 and ≥ 10 years of the disease) with 25 patients each. Thirty-six euthymic patients (72%) were female. There was a significant difference in the mean age between the euthymic patient groups (≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease) **($p < 0.01$)** and a significant difference in the mean years of education between the healthy control group and both euthymic patient groups (≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease) **($p < 0.01$)**. There was a nonsignificant difference between groups in gender, occupational status, or marital status **($p > 0.05$)**, as shown in **Table 1.**

The bipolar patients had a mean disease duration of ≤ 3 years (2.52 ± 0.65) and ≥ 10 years (15.64 ± 6.81), and the mean age at onset of the disease was ≤ 3 years (22.1 ± 7.01) and ≥ 10 years (25.1 ± 6.17). There was a significant difference in the mean illness duration between the euthymic patient groups (≤ 3 years and ≥ 10 years of the disease) **($p < 0.001$)**. There was a nonsignificant difference between groups in age onset, hospitalizations, and duration of hospitalizations **($p > 0.05$)**. Regarding pharmacologic treatment, our results showed that 10 (20%) of the patients were on monotherapy. Among the

For Review Only

patients on polypharmacy, 18 (36%), 16 (32%), and 6 (12%) of the patients received 2, 3, and 4 psychotropic medications, respectively, as shown in **Table 2**.

Table 1: Sociodemographic Characteristics of the Sample

	Healthy Controls n = 25	Bipolar Patients ≤ 3 years of the disease n = 25	Bipolar Patients ≥ 10 years of the disease n = 25	*p* - Value
Age, years [b]	35.0 (±9.96)	34.9 (±10.04)	47.4 (±8.21)	*p* < 0.01 [c]
Gender, n				*p* = 0.77 [a]
Male	9	7	7	
Female	16	18	18	
Marital status n (%)				*p* = 0.88 [d]
Married	12 (48)	9 (36)	15 (64)	
Divorced	1 (4)	2 (8)	5 (20)	
Widowed	1 (4)	0 (0)	1 (4)	
Single	11 (44)	14 (56)	4 (12)	
Years of education [b]	14.7 (±2.18)	13.8 (±2.70)	12.4 (±2.77)	*p* < 0.01 [c]
Education n (%)				*p* = 0.13 [d]
Illiterate	-	-	-	
Up to primary school	0 (0)	3 (12)	4 (16)	
Up to high school	10 (40)	10 (40)	12 (48)	
Graduate	12 (48)	12 (48)	9 (36)	
Postgraduate	3 (12)	0 (0)	0 (0)	
Work situation n (%)				*p* = 0.17 [d]
Employed	23 (92)	18 (72)	13 (52)	
Unemployed	2 (8)	6 (24)	10 (40)	
Medical benefits	0 (0)	1 (4)	0 (0)	
Invalidity	0 (0)	0 (0)	2 (8)	

[a] χ^2 [b] Mean (±SD) [c] One-way ANOVA followed by Dunn's post hoc [d] Fisher's exact test [e] Kruskal Wallis

Table 2: Clinical and Pharmacological Characteristics of the Sample

	Healthy Controls n = 25	Bipolar patients ≤ 3 years of the disease n = 25	Bipolar patients ≥10 years of the disease n = 25	*p*- Value
Illness duration (years) [a]	N/A	2.52 (±0.65)	15.64 (±6.81)	*p* < 0.001 [d]
Age of onset (years) [a]	N/A	22.1 (±7.01)	25.1 (±6.17)	*p* = 0.82 [d]
HAMD-17 total score [a]	4.32 (±2.49)	4.10 (±2.02)	3.71 (±1.46)	*p* = 0.53 [b]
YMRS total score [a]	0.56 (±0.86)	0.88 (±1.01)	1.28 (±1.13)	*p* = 0.06 [c]
Hospitalizations: n (%)	N/A	12 (48)	8 (32)	
Duration hospitalizations: (day) [a]	N/A	13.4 (±24.3)	13.0 (±36.6)	*p* = 0.90 [d]
Suicide attempts n	N/A	18	40	
Family history of affective disorders n (%)	N/A	10 (40)	13 (52)	
Treatment n (%)				
Lithium	N/A	13 (52)	15 (60)	
Other mood stabilizers	N/A	11 (44)	13 (52)	
Atypical antipsychotics	N/A	8 (32)	12 (48)	
Typical antipsychotics	N/A	2 (8)	0 (0)	
Antidepressants	N/A	7 (28)	7 (28)	
Benzodiazepines	N/A	2 (8)	7 (28)	

HAMD-17 = Hamilton Depression Rating Scale; YMRS = Young Mania Rating Scale; N/A = not available; [a] Mean (±SD)
[b] t test [c] Mann-Whitney [d] Kruskal Wallis

3.2. Evaluation of the activity of tricarboxylic acid cycle enzymes in leukocytes

Regarding the TCA cycle, no changes in the activity of the citrate synthase and succinate dehydrogenase enzymes in leukocytes in any of the groups were observed, $p > 0.05$, as shown in **Table 3**.

Table 3: Comparison of activity of the citrate synthase and succinate dehydrogenase enzymes in leucocytes between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

	Control Patients n = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 years n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 years n= 25	*p* – Value
Tricarboxylic Acid Cycle enzymes				
Citrate synthase (nmol/min x mg protein) Means (± SD)	1.50 (± 0.39)	1.76 (± 0.53)	1.68 (± 0.38)	0.15 [a]
Succinate dehydrogenase (nmol/min x mg protein) Means (± SD)	3.29 (± 1.67)	2.83 (± 2.05)	3.33 (± 1.49)	0.06 [b]

Means ± standard deviation (SD). The normality of each variable was analyzed using the Kolmogorov-Smirnov normality test. [a] To compare parametric variables between the three independent groups, two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test was used. [b] To compare nonparametric variables between the three independent samples, the Kruskal-Wallis test was used. Dunn's *post hoc* test was performed for pairwise comparisons if the main effects were significant. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

3.3. Evaluation of the energy metabolism activity of complexes I and II enzymes in the electron transport chain in leukocytes

Complex I activity had a significant increase in both patients; ≤ 3 years (461.80 ± 162.76) and ≥ 10 years (561.21 ± 328.13) since disease onset compared to the control group (335,39 ± 167.64) [$F(2,72) = 5.921$; $df = 72$; $p < 0.01$]. Complex II activity had a significant increase in the group of patients ≥ 10 years (3.42 ± 1.38) compared to patients ≤ 3 years (2.66 ± 1.17) at disease onset and compared to the control group (2.43 ± 0.95) [$F(2,72) = 4.828$; $df = 74$; $p < 0.01$]. Thus, euthymic patients showed an increase in complex I and II activity levels, especially in the ≥ 10 years group, as shown in **Fig. 1 Fig 2.**

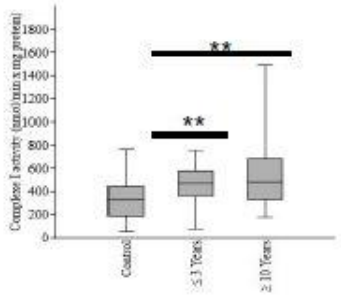


Fig. 1 - Box Plot - Comparison of activity of complexe I activity (nmol/min x mg protein) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

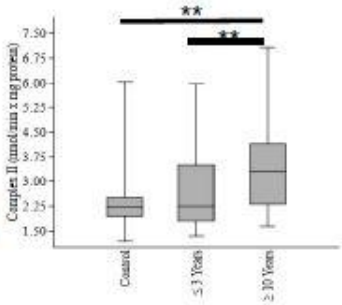


Fig. 2 - Box Plot - Comparison of activity of complex II activity (nmol/min x mg protein) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

4.0. Discussion

Studies with bipolar patients show several changes in peripheral biomarkers, which have shown an association of BD with significant systemic toxicity (neuroinflammation) [14]. Thus, this toxicity may be related to changes in these peripheral physiological systems and influence changes in the central nervous system, contributing to a decrease in cellular resilience, producing cognitive and functional changes, and leading to a greater vulnerability of patients to stress and clinical worsening in their health, (neuroprogression). In this context, a better understanding of the mechanisms responsible for such biochemical, cognitive, and functional changes may help in the development of new therapies that are more effective in the treatment of BD. However, psychiatry still needs reliable and accessible biomarkers that facilitate early diagnosis. Regarding energy metabolism biomarkers, there are only a few studies, mainly relating to biomarkers of the TCA cycle and ETC

complexes. When we refer to the mediators of energy metabolism, we must remember that mitochondria are the main cellular structure involved. Studies show that inflammatory activations can affect mitochondrial functions, altering energy production from dysfunctions mainly in the TCA cycle and ETC complexes, and alterations were found in several psychiatric pathologies, such as BD. As an example, we can observe that higher levels of inflammatory cytokines produce decreased ETC complex I activity in the brain and peripheral cells of bipolar patients, leading to increased reactive oxygen species (ROS) production by mitochondria [15]. Another example was studied by **Kim *et al.* (2016)**[16] , showing that the activation of the inflammatory system, by increased levels of caspase-1, interleukins (IL) IL-1, IL-6, IL-10, and tumor necrosis factor-α, induces the production of ROS, causing mitochondrial changes in the ETC and in the TCA cycle, and the same ROS produced through oxidative stress worsens mitochondrial functions both in the TCA cycle and in the ETC complexes, stimulating the mitochondria to produce more ROS, which will generate a chronic cycle that feeds back. As previously commented, increased neuronal oxidative stress produces deleterious effects on signal transduction, plasticity, and cellular resilience that can induce mitochondrial dysfunction by reducing ETC and TCA cycle activity [17]. These mitochondrial dysfunctions can be measured in the peripheral blood and *postmortem* brains of BD patients [18][19].

In a review study, **Zuccoli *et al.* (2017)** [20] compiled 95 expressed proteins that were found to be differentially related to energy metabolism in BD in *postmortem* brain tissue. Forty-eight of these proteins were primarily related to the TCA cycle and ETC. TCA cycle proteins are composed of a set of eight enzymes present in the mitochondrial matrix, with most enzymes encoded in the nucleus in higher eukaryotes. These proteins are essential for mitochondrial energy production and produce substrates used in oxidative phosphorylation by the ETC. Thus, inactivating any of them can reduce mitochondrial energy generation [21]. In this manner, the TCA cycle is critical for mitochondrial activity, as it produces substrates that feed oxidative phosphorylation in the mitochondrial ETC, which, when present in mitochondrial dysfunctions, can play an essential role in the pathophysiology of neuropsychiatric diseases. This notion is consistent with parallel studies of transcriptomics, proteomics, and metabolomics showing differential expression of several genes related to mitochondrial functions between patients with mental disorders and healthy controls [22]. Despite its importance, few studies have evaluated the activity of TCA cycle enzymes in patients with mental illnesses, particularly in bipolar patients. One of these studies was carried out with 18 patients with BD during the depressive phase at the beginning of the disease and was treatment-naïve [23]. The research evaluated the activity of the main enzymes of the TCA cycle, citrate synthase, malate dehydrogenase, and succinate dehydrogenase in leukocytes from BD patients. There was no change in enzymatic activity in the TCA cycle compared to controls. There was also no correlation between any enzyme activity of the TCA cycle and the severity of depressive symptoms in recent-onset BD. Thus, **De Sousa *et al.* (2014a)**[24] suggested that even if mitochondrial changes occur early in the disease, the organism might have compensatory mechanisms that prevent changes in the TCA cycle at the beginning of

the disease. In our study, we found similar results, in which we did not observe significant changes in the levels of citrate synthase and succinate dehydrogenase enzymes in leukocytes from euthymic patients, both in the group of patients who started the disease with ≤ 3 years and in the group with ≥ 10 years of the disease. Analyzing our results, we were able to observe that even patients with a longer duration of the disease remain in the euthymic phase and present normal values of these enzymes. It is also important to point out that we did not find any studies focusing on the later stages of the disease, which makes this work relevant.

In a study carried out in rats, **Feier *et al.* (2013)**[25], using methamphetamine as a model for inducing mania, observed a decrease in the enzymes of the TCA cycle (citrate synthase and succinate dehydrogenase) and consequently of complexes I, II, III, IV of the ETC, where after the use of mood stabilizers (lithium and valproic acid), the values returned to normal. This reinforces the idea that treated patients show reversal of energy metabolism dysfunction in TCA and ETC cycle enzymes, developing the hypothesis that TCA cycle enzymes may be involved in BD. In another similar work, **Valvassori *et al.* (2014)** [26] found reduced levels of citrate synthase, succinate dehydrogenase, and malate dehydrogenase enzymes in the prefrontal cortex, hippocampus, and striatum in rats treated with amphetamine. These reduced levels were associated with behavioral hyperactivity, which later, when treated with tamoxifen, showed significant improvement in the levels of these enzymes and in behavior. These findings suggest that inhibition of TCA cycle enzymes may be an important link to the mitochondrial dysfunctions seen in BD. However, we should note that **Bubber *et al.* (2004)** [27] demonstrated that although the enzymatic activities of the TCA cycle in rat brains have a similar pattern to humans, most brain enzymatic activities of these animals are 2 to 3 times higher than those in human brains. On the other hand, the same researcher showed that the activities of TCA cycle enzymes varied considerably in the human brain in schizophrenia, where they had reduced activity in some of them, suggesting that similar changes also occurred in other psychiatric pathologies [28]. In contrast, **Yoshimi *et al.* (2016)** [29] showed that serum levels of pyruvate and α-ketoglutarate in BD patients were significantly higher than those of healthy controls and that the latter likely plays a role in the pathogenesis of BD, although the underlying reasons are still unknown. The serum levels of acetyl-CoA and oxaloacetate were not altered. In addition, no studies were conducted during the later stages of the disease, and α-ketoglutarate is a key metabolite in the TCA cycle and is involved in DNA and histone methylation, producing an epigenetic impact. It has been suggested that epigenetic modifications play an important role in the pathogenesis of many psychiatric disorders, including BD [30].

As described above, evidence suggests that mitochondrial dysfunction and oxidative stress are correlated in the pathogenesis of BD, more specifically with the impairment of ETC complexes. In our work, we evaluated the activity of complexes I and II, which showed altered levels. The values showed a significant increase in activity between the groups, in which higher complex I activity was observed in euthymic bipolar patients, both in the group with ≤ 3 years and more than ≥ 10 years of

illness, when compared to the control group ($p < 0.01$), as shown in **Fig. 1.** Additionally, regarding complex II, we found a significant increase only in the group with ≥ 10 years of the disease and not in any other group ($p < 0.01$). However, it should be noted that in the group of ≤ 3 years of the disease in complex II, there was an increase in activity compared to the control group, but it was not statistically significant, as shown in **Fig. 2.** The question to be answered regarding the increase in the activity of these two complexes would be whether this increase is due to an adaptive response of the mitochondria with an increased expression of these mitochondrial ETC protein complexes, a primary deficit in BD, or the use of specific drugs for the treatment of BD.

To answer this question, further research will be needed ahead, including another group of bipolar patients, this time untreated, and comparing them with the current groups. However, to discuss our results, we sought some answers in the literature. The articles studied presented very conflicting results, and this was due to the different materials and methods used, which we will discuss next. These differences in methodology are observed relating to the tissue used (*postmortem* neurons; leukocytes, platelets, or in cell culture); the stage of the disease (mania, depression, and euthymia); the brain area evaluated (prefrontal, cerebellum, and parietal); use or not of stabilizing medication, methodology for measurement (through gene expression or measurements of ETC proteins, or their subunits). All these variables can become factors that enable different results.

All ETC complexes have several subunits, as shown in **Fig. 3.** Complex I is the most studied. This complex is composed of 26 polypeptide chains (subunits) and is the largest of the ETC complexes. Thus, many studies have shown that bipolar patients in the manic or depressive phase have lower levels of complex I activity. **Ben-Shachar and Karry (2008)** [31] evaluated complex I subunits in *the postmortem* cerebellum of bipolar patients and compared them with control patients. Decreased levels of the following subunits were observed: NDUFV1 (NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1); NDUFV2 (NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 2) and NDUFS1 (NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 1). However, in this same work, when the levels of NDUFV1 and NDUFV2 in the parietal-occipital cortex were evaluated, there was an increase in the activity. These results suggest that there may be regional changes in the brain related to mitochondrial complex dysfunction in BD patients. In other studies, **Sun *et al.* (2006)** [32] and ***Kim et al.* (2016)** [16] evaluated the complex I subunit NDUFS7 (NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 7) in the prefrontal cortex of *postmortem* bipolar patients. In all of them, reduced levels of this protein were found. Another study carried out by **Andreazza *et al.* (2013)** [33] also observed a decrease in complex I but no change in complex III in the *postmortem* prefrontal cortex of bipolar patients in mania.

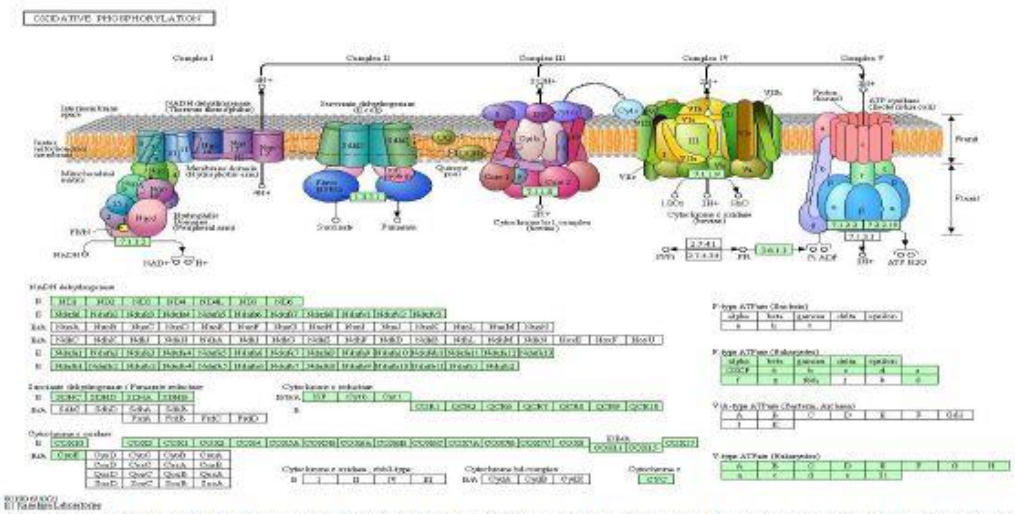


Fig 3. Image origin: Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic acids research*, *28*(1),27-30. This image was obtained with permission from KEGG.

We must remember that complexes I and III are primarily responsible for the increased production of ROS, especially superoxide anion (O2•-), with complexes I and III being the main producers of ROS under normal metabolic conditions [34]. This increase in O2•- by ETC can secondarily cause more mitochondrial dysfunction, feedback the process of compromising respiratory chain proteins, and lead to more mitochondrial dysfunction and, consequently, decreased ATP synthesis [35] . The same results were found in rats submitted to an experimental model of depression, which showed impaired mitochondrial function in complexes I and IV of the cerebral cortex and cerebellum [36]. On the other hand, **De Sousa *et al.* (2014b)** [18] found no changes in the copy number of mitochondrial DNA, which encodes proteins related to ETC activity in leukocytes from untreated patients with bipolar depression, compared with healthy patients. Even after six weeks of lithium treatment, the mitochondrial DNA copy number remained unchanged.

In another study, **Gubert *et al.* (2013)** [37] evaluated 12 euthymic bipolar patients all on treatment and compared them with 30 healthy volunteers. A significant decrease in complex I activity was observed in peripheral blood mononuclear cells. These results differ from ours, where increases in complexes I and II were found in euthymic patients treated with mood stabilizers. However, the results of **De Sousa *et al.* (2015a)** [23], after evaluating complex I in peripheral blood using leukocytes from patients with BD in the depressive phase, reported a decrease in complex I activity, but after treatment with lithium, they showed an increase in ETC complex I activity, without any changes in other complexes, and these results are in line with ours. Similar data to ours were observed by **Sun *et al.* (2006)** [32], where the expression of the complex I subunit gene (NDUFS7) was increased in the prefrontal cortex of patients treated with lithium compared to patients without lithium treatment. When correlating the plasma lithium level, they observed a positive correlation with the levels of mitochondrial complex I activity after treatment. Finally, in a study similar to ours, **Valvassori *et al.* (2018)** [19] found results that reflect

Review Only

much of those found by our group. By analyzing the activity levels of the mitochondrial complex (I, II, II-III and IV) in peripheral blood using lymphocytes from 51 patients with BD, 34 of whom were euthymic and 37 in the depressive phase, the researchers observed that during the depressive phase, there is an increase in mitochondrial O2•-, carbonyl, thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS) and superoxide dismutase (SOD) levels, which may reduce mitochondrial complex II activity levels, producing a negative correlation between the HAM-D 17 scale and complex II activity in lymphocytes, a positive correlation between the HAM-D 17 and TBA-RS scale, and a negative correlation between the activity of complex II and the parameters of oxidative stress, i.e. represented by SOD. A decrease in complex II has also been reported in lymphocytes from bipolar patients in the depressive phase compared to euthymic patients. This reinforces the idea that euthymic patients present an improvement in the functioning of ETC proteins, at least regarding complexes I and II, as observed by our group. This is possibly due to the effect of mood stabilizers on ETC or the decrease in oxidative stress, as we observed in a previous study carried out by our research group.

Regarding new studies, **Zvěřová *et al.* (2019)** [38] and **Hroudová *et al.* (2019)** [39] evaluated ETC complexes and platelets in the peripheral blood of bipolar patients. In the first study, they used 24 patients in the depressive phase and compared them with healthy controls. In the second study, they used bipolar patients in a manic episode and patients in remission and compared them with normal control patients. Almost all patients were using medication. In the first study, a significant increase in complex I was observed, but a decrease in citrate synthase, complex II and complex IV was observed in bipolar patients compared to healthy controls. In the second study, the activities of citrate synthase and ETC complexes I, II and IV were examined. The activities of citrate synthase, complex II and complex IV were decreased in patients with BD, the activity of complex I was increased, and the relationship between complex I and citrate synthase was significantly increased, corroborating findings by [38]. Thus, curiously, the findings were similar in patients in the depressed and manic phases of BD. Both studies suggest that increased complex I activity may be a compensatory mechanism in response to disturbances in the oxidative phosphorylation system, for example, decreased complex II and complex IV activities. As previously described, our research observed a similar result with an increase in complex I both in the groups ($\leq$ 3 years and $\geq$ 10 years of the disease); however, relating to complex II patients, we only observed an increase in the group of patients with $\geq$ 10 years of the disease. These studies consistently demonstrate that the use of medication seems to produce an improvement in the functioning of ETC proteins, reinforcing the hypothesis of several authors. **Iwamoto *et al.* (2005)** [40] found that each of the drug groups used to treat BD (lithium, valproic acid, and antipsychotics) appeared to significantly affect the overall repressive process in the expression of mitochondrial-related genes. Studies in cell culture and animal models have also shown that chronic treatment with lithium or valproic acid can increase mitochondrial function and protect against mitochondria-mediated toxicity [41]. Lithium has also been shown to increase complex I - III activity in *postmortem* human brain tissue extracts at therapeutically relevant concentrations [42]. In this way, we can observe that there are very different results between

For Review Only

the different articles, where previous studies, based on *postmortem* brain samples, differ from the findings based on blood samples isolated from living individuals with BD. There may also be significant differences regarding studies using gene expression, where ETC genes are unregulated in the blood but downregulated in some regions of the central nervous system of patients with BD. For the dosages of ETC proteins in leukocytes, these seem to present more consistent results and less variation, demonstrating that generally the proteins of the complexes or their subunits, especially those of complexes I and II, seem to have their activities reduced during the phases of manic and depressive symptoms of the disease, but they improve after returning to euthymia due to the use of stabilizers.

5. Conclusion

The conclusions of this study reinforce the hypothesis of neuroprogression and neuroinflammation developed by several researchers. This hypothesis states that during acute mood episodes, there are changes associated with the systemic toxicity of the disease and the damage resulting from multiple episodes. The recurrence of episodes in BD produces worse outcomes, producing functional and cognitive impairments and decreased responsiveness to treatment. Our results suggest that peripheral biomarkers related to energy metabolism pathways show greater stabilization and normalization of their levels during the euthymia phase. This stabilization occurs in part due to the use of mood stabilizers, as observed in our study, with increased activity of complexes I and II during euthymia, suggesting that there was an improvement in the activity of these complexes due to the use of stabilizing medications, as shown in **Fig. 1** and **Fig. 2.** In light of this knowledge, we can propose that the use of mood stabilizers, in addition to producing better management of acute episodes, prevents their recurrence with an improvement of mitochondrial functions.

Studies have shown that mood stabilizers produce protective antioxidant effects, producing an increase in mitochondrial function and reflecting symptomatic improvement in bipolar patients. Both lithium and valproic acid directly increase the activity of complex I of the mitochondrial ETC, and both substances appear to induce complex II, III, and V phosphorylation, increasing energy production [32][43]. Thus, the early use of medications for treatment, despite their side effects, would be beneficial in the clinical evolution of the patient. In our sample, we observed that all patients used drugs from the most diverse categories — lithium carbonate, antidepressants, antipsychotics, and anticonvulsants — used alone or in combination. We know that, in general, they are effective in 80% of cases of BD and depression and have been proven to produce a neuroprotective effect [44]. However, in a study with bipolar patients, it was found that 40% of these patients, especially those with more severe conditions, could only keep the disease under control by taking three or more medications and that, in general, these diseases reach a very advanced stage and are more difficult to control after the tenth crisis, where the outbreaks gain autonomy and can become independent of the stressful conditions that previously triggered them (a process called

For Review Only

kindling), which usually occurs approximately 10 years after the first manifestations of the disease. Usually, patients search for treatment many times after the onset of the disease. Sometimes the psychiatrist spends much time diagnosing and prescribing the correct medications. In BD, the time since the onset of the disease and the beginning of the treatment varies between 5 and 10 years. During this time, they face many challenges at work and social and family relationships [45] [46]. Finally, the mitochondrial alterations and differences in the expression of proteins of ETC complexes and the TCA cycle also present alterations in the morphological structures of mitochondria, which affect energy metabolism due to the inhibition of ETC and TCA cycles with ATP depletion. These alterations seem to support the idea that mitochondrial disorders are early in the physiopathology of BD [47]. Thus, more studies will be necessary to clarify the relationship between the diagnoses, moods, treatment, and expression of proteins in the ECT complex, TCA enzymes, and mitochondrial morphology in BD.

STATEMENTS AND DECLARATIONS

Acknowledgments - This work was supported by grants from Universidade da Região de Joinville and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Brasil).

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Research Ethics Committee This study was approved by the Research Ethics Committee of Universidade da Região de Joinville - UNIVILLE (protocol number 655.037) and followed the ethical rules of the Helsinki Declaration of 1975. All participants provided written informed consent before entering the study.

Datasets - The datasets generated during and/or analyzed during the current study are not publicly available because individual privacy could be compromised but are available from the corresponding author upon reasonable request.

References

[1] Panizzutti B, Gubert C, Schuh AL, Ferrari P, Bristot G, Fries GR, et al. Increased serum levels of eotaxin/CCL11 in late-stage patients with bipolar disorder: An accelerated aging biomarker? Journal of affective disorders. 2015; 182,64-69. https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.12.010

[2] Pfaffenseller B, Fries GR, Wollenhaupt-Aguiar B, Colpo GD, Stertz L, Panizzutti B, et al. Neurotrophins, inflammation and oxidative stress as illness activity biomarkers in bipolar disorder. Expert Rev. Neurother. 2013; 13,827–842. https://doi:10.1586/14737175.2013.811981

[3] Rybakowski JK, Remlinger-Molenda A, Czech-Kucharska A, Wojcicka M, Michalak M, Losy J. Increased serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) levels in young patients during bipolar depression. Journal of affective disorders. 2013; 146(2),286-289. https://doi.org/10.1016/j.jad.2012.07.019

[4] Scaini G, Barichello T, Fries GR, Kennon EA, Andrews T, Nix BR, et al. TSPO upregulation in bipolar disorder and concomitant downregulation of mitophagic proteins and NLRP3 inflammasome activation. Neuropsychopharmacology. 2019; 44(7),1291-1299. https://doi.org/10.1038/s41386-018-0293-4

[5] Cyrino LAR, Delwing-de Lima D, Ullmann OM, Maia TP. Concepts of Neuroinflammation and Their Relationship with Impaired Mitochondrial Functions in Bipolar Disorder. Frontiers in Behavioral Neuroscience. 2021; 15. https://doi:10.3389/fnbeh.2021.609487

[6] McEwen BS, and Gianaros PJ. Stress and allostasis-induced brain plasticity. Annual review of medicine. 2011; 62,431-445. https://doi:10.1146/annurev-med-052209-100430

[7] Young RC, Biggs JT, Ziegler VE, Meyer DA. A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. The British journal of psychiatry. 1978; 133(5),429-435. https://doi:10.1192/bjp.133.5.429.

[8] Hamilton M. A rating scale for depression. Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry. 1960; 23(1),56. https://doi.org/10.1136/jnnp.23.1.56.

[9] Noble PB, Cutts JH. Separation of blood leukocytes by Ficoll gradient. Can. Vet. J. 1967; 8,110–111. [PubMed: 6046425] PMID: 4966278.

[10] Alp PR, Newsholme EA, Zammit VA. Activities of citrate synthase and NAD+-linked and NADP+-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. Biochemical Journal. 1976; 154(3), 689-700. https://doi.org/10.1042/bj1540689

[11] Fischer JC, Ruitenbeek W, Berden JA, Trijbels JF, Veerkamp JH, Stadhouders AM, et al. Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal muscle. Clinica chimica acta. 1985; 153(1),23-36. https://doi.org/10.1016/0009-8981(85)90135-4

[12] Cassina A, and Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. Archives of biochemistry and biophysics. 1996; 328(2), 309-316. https://doi.org/10.1006/abbi.1996.0178

[13] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951; 93(1): 265–275 https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6

[14] Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira A, Magalhães PVS, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, et al. A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes. Mol. Psychiatry. 2010; 15,784–786. https://doi:10.1038/mp.2009.112

[15] Kim HK, Chen W, Andreazza AC. The potential role of the NLRP3 inflammasome as a link between mitochondrial complex I dysfunction and inflammation in bipolar disorder. Neural plasticity. 2015; https://doi.org/10.1155/2015/408136

[16] Kim HK, Andreazza AC, Elmi N, Chen W, Young LT. Nod-like receptor pyrin containing 3 (NLRP3) in the post-mortem frontal cortex from patients with bipolar disorder: a potential mediator between mitochondria and immune-activation. Journal of psychiatric research. 2016; 72,43-50. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.10.015

[17] Olmez I, Ozyurt H. Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease. Neurochemistry international. 2012; 60(2), 208-212. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.11.009

[18] De Sousa RT, Uno M, Zanetti MV, Shinjo SM, Busatto GF, Gattaz WF, et al. Leukocyte mitochondrial DNA copy number in bipolar disorder. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2014b; 48, 32-35. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.09.002

[19] Valvassori SS, Bavaresco DV, Feier G, Cechinel-Recco K, Steckert AV, Varela RB, et al. Increased oxidative stress in the mitochondria isolated from lymphocytes of bipolar disorder patients during depressive episodes. Psychiatry research, 2018; 264,192-201. https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.03.089

[20] Zuccoli GS, Saia-Cereda VM, Nascimento JM, Martins-de-Souza D. The energy metabolism dysfunction in psychiatric disorders postmortem brains: focus on proteomic evidence. Frontiers in neuroscience. 2017; 11,493. https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00493

[21] Lazzarino G, Amorini AM, Signoretti S, Musumeci G, Lazzarino G, Caruso G, et al. Pyruvate dehydrogenase and tricarboxylic acid cycle enzymes are sensitive targets of traumatic brain injury induced metabolic derangement. Int. J. Mol. Sci. 2019; 20:5774. https://doi:10.3390/ijms20225774

[22] Prabakaran S, Swatton J, Ryan M, Huffaker SJ, Huang JT-J, Griffin JL, et al. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. Mol. Psychiatry. 2004; 9,684–697. https://doi:10.1038/sj.mp.4001511

[23] De Sousa RT, Streck EL, Zanetti MV, Ferreira GK, Diniz BS, Brunoni AR, et al. Lithium increases leukocyte mitochondrial complex I activity in bipolar disorder during depressive episodes. Psychopharmacology. 2015a; 232(1), 245-250. https://doi.org/10.1007/s00213-014-3655-6

[24] De Sousa RT, Zarate Jr CA, Zanetti MV, Costa AC, Talib LL, Gattaz WF, et al. Oxidative stress in early stage bipolar disorder and the association with response to lithium. Journal of psychiatric research. 2014a; 50,36-41. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.11.011a

[25] Feier G, Valvassori SS, Varela RB, Resende WR, Bavaresco DV, Morais MO, et al. Lithium and valproate modulate energy metabolism in an animal model of mania induced by methamphetamine. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2013; 103(3), 589-596. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.09.010

[26] Valvassori SS, Bavaresco DV, Budni J, Bobsin TS, Gonçalves CL, de Freitas KV, et al. Effects of tamoxifen on tricarboxylic acid cycle enzymes in the brain of rats submitted to an animal model of mania induced by amphetamine. Psychiatry Res. 2014; 215,483–487. https://10.1016/j.psychres.2013.11.016

[27] Bubber P, Tang J, Haroutunian V, Xu H, Davis KL, Blass JP, et al. Mitochondrial enzymes in schizophrenia. J. Mol. Neurosci. 2004; 4, 315–321.https://doi:10.1385/JMN:24:2:315

[28] Bubber P, Hartounian V, Gibson GE, Blass, JP. Abnormalities in the tricarboxylic acid (TCA) cycle in the brains of schizophrenia patients. Eur. Neuropsychopharmacol. 2011; 21, 254–260. https://doi:10.1016/j.euroneuro.2010.10.007

For Review Only

[29] Yoshimi N, Futamura T, Kakumoto K, Salehi AM, Sellgren CM, Holmén-Larsson J, et al. Blood metabolomics analysis identifies abnormalities in the citric acid cycle, urea cycle and amino acid metabolism in bipolar disorder. BBA Clin. 2016; 5,151–158. https://doi:10.1016/j.bbacli.2016.03.008

[30] Kato T, Iwamoto K. Comprehensive DNA methylation and hydroxymethylation analysis in the human brain and its implication in mental disorders. Neuropharmacology. 2014; 80,133–139. https://doi:10.1016/j.neuropharm.2013. 12.019

[31] Ben-Shachar D, and Karry R. Neuroanatomical pattern of mitochondrial complex I pathology varies between schizophrenia, bipolar disorder and major depression. PloS one. 2008; 3(11), e3676. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003676

[32] Sun X, Wang JF, Tseng M, Young LT. Downregulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. Journal of psychiatry & neuroscience: JPN. 2006; 31(3),189–196. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1449880/pdf/20060500s00006p189.pdf

[33] Andreazza AC, Wang JF, Salmasi F, Shao L, Young LT. Specific subcellular changes in oxidative stress in prefrontal cortex from patients with bipolar disorder. Journal of Neurochemistry. 2013; 127(4), 552-561. https://DOI10.1111/jnc.12316

[34] Steckert AV, Valvassori SS, Moretti M, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Role of oxidative stress in the pathophysiology of bipolar disorder. Neurochemical research. 2010; 35(9),1295-1301. https://doi.org/10.1007/s11064-010-0195-2

[35] Akarsu S, Torun D, Erdem M, Kozan S, Akar H, Uzun O. Mitochondrial complex I and III mRNA levels in bipolar disorder. Journal of affective disorders. 2015; 184, 160-163. https://DOI10.1016/j.jad.2015.05.060

[36] Rezin GT, Cardoso MR, Gonçalves L, Scaini G, Fraga DB, Riegel RE, et al., Inhibition of mitochondrial respiratory chain in brain of rats subjected to an experimental model of depression. Neurochemistry International. 2008; 53,395-400, https://doi.org/10.1016/j.neuint.2008.09.012

[37] Gubert C, Stertz L, Pfaffenseller B, Panizzutti BS, Rezin GT, Massuda R, et al. Mitochondrial activity and oxidative stress markers in peripheral blood mononuclear cells of patients with bipolar disorder, schizophrenia, and healthy subjects. Journal of psychiatric research. 2013; 47(10),1396-1402. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.06.018

[38] Zvěřová M, Hroudová J, Fišar Z, Hansíková H, Kališová L, Kitzlerová E, et al. Disturbances of mitochondrial parameters to distinguish patients with depressive episode of bipolar disorder and major depressive disorder. Neuropsychiatric disease and treatment. 2019; 15,233. https://DOI10.2147/NDT.S188964

[39] Hroudová J, Fišar Z, Hansíková H, Kališová L, Kitzlerová E, Zvěřová M, et al. Mitochondrial dysfunction in blood platelets of patients with manic episode of bipolar disorder. CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders). 2019; 18(3),222-231. https://DOI10.2174/1871527318666181224130011

[40] Iwamoto K, Bundo M, Kato T. Altered expression of mitochondria-related genes in postmortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large-scale DNA microarray analysis. Human molecular genetics. 2005; 14(2), 241-253. https://doi.org/10.1093/hmg/ddi022

[41] Bachmann RF, Wang Y, Yuan P, Zhou R, Li X, Alesci S, et al. Common effects of lithium and valproate on mitochondrial functions: protection against methamphetamine-induced mitochondrial damage. International Journal of Neuropsychopharmacology. 2009; 12(6),805-822. https://doi.org/10.1017/S1461145708009802

[42] Maurer IC, Schippel P, Volz HP. Lithium-induced enhancement of mitochondrial oxidative phosphorylation in human brain tissue. Bipolar disorders. 2009; 11(5),515-522. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2009.00729.x

[43] Corena-McLeod M, Walss-Bass C, Oliveros A, Gordillo-Villegas A, Ceballos C, Charlesworth CM, et al. New model of action for mood stabilizers: phosphoproteome from rat pre-frontal cortex synaptoneurosomal preparations. PloS one. 2013; 8(5), e52147. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052147

[44] Geddes JR, and Miklowitz DJ. Treatment of bipolar disorder. Lancet (London, England). 2013; 381(9878),1672–1682. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60857-0

[45] Fritz K, Russell AM, Allwang C, Kuiper S, Lampe L, Malhi GS. Is a delay in the diagnosis of bipolar disorder inevitable? Bipolar disorders. 2017; 19(5),396-400.https://doi.org/10.1111/bdi.12499

[46] O'Donovan C and Alda M. Depression preceding diagnosis of bipolar disorder. Frontiers in psychiatry. 2020; 11, 500. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.00500

[47] Marques AP, Resende R, Silva DF, Batista M, Pereira D, Wildenberg B, et al. Mitochondrial Alterations in Fibroblasts of Early Stage Bipolar Disorder Patients. Biomedicines. 2021; 9(5),522. https://doi.org/10.3390/biomedicines9050522

PARTE III

Resultados Bioquímicos

6. RESULTADOS

Os resultados a serem discutidos estão divididos em três seções.

1- Os dados referentes à caracterização da população estudada, incluindo dados sócio-demográficos, presença de comorbidades clínicas, uso de medicação e transtornos psiquiátricos. **[*ver resultados no artigo 3 — Item III — seção 3.1 — pag. 405 – 407*].**

2- Avaliação dos pacientes a partir dos critérios diagnósticos do DSM-V, assim como a avaliação através das escalas clínicas de intensidade de sintomas depressivos, HAM-D 17, e maníacos, YOUNG. Foram considerados pacientes eutímicos aqueles que apresentassem valores na escala de HAM-D 17 menores que 7 e valores na escala de YOUNG menores ou iguais a 7. Também são apresentados os resultados das escalas FAST e FAB, com suas linhas de corte especificadas. Estes testes foram utilizados nos pacientes bipolares eutímicos, tanto no grupo de pacientes com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos do início da doença, comparativamente aos pacientes controles. Nesta mesma seção foram realizadas a correlação entre estes testes e avaliados os diferentes domínios nos subgrupos estudados. Também foi correlacionado as possíveis áreas cerebrais envolvidas e com os domínios do teste FAB **[*ver resultados no artigo 3 — Item III — seção 3.2, 3.3 — resultados, pag. 407–416*].**

3- Nesta seção é feita a análise comparativa dos fatores neurotróficos (BDNF e GDNF), inflamatórios séricos (IL-6, IL-10 e TNF-α), das metodologias relacionadas ao EO (SOD, GSH-Px, CAT, TBA-RS) nos eritrócitos e no plasma, e dos mediadores do metabolismo energético (citrato sintase, succinato desidrogenase, Complexo I e II) em leucócitos, dos pacientes bipolares eutímicos nos dois períodos de doença (com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos do início da doença) comparados ao grupo controle saudável.

6.1. AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE FATORES NEUROTRÓFICOS

A avaliação sérica apresentada na **Tabela 1 e Figs. 1 e 2**, dos fatores neurotróficos GDNF e BDNF do grupo amostral, estão na forma de média e desvio padrão. Em relação ao BDNF de pacientes bipolares em eutimia, observou-se melhora na atividade do BDNF entre os grupos ≤ 3 anos e ≥ 10 anos, em relação ao grupo controle **[F(2,72) = 3668; *p* < 0,01]**, mas não houve mudanças significativas entre ou dentro dos grupos em relação ao GNDF **[F(2,72) = 1046; *p* = 0,25].**

Table 1: Comparison of serum levels of neurotrophic factors GDNF and BDNF, in euthymic bipolar patients, between the groups with ≤ 3 years and ≥ 10 years since the disease onset, compared to the healthy control group.

	Control Patients n = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 years n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 years n= 25	*p* – Value
Neurotrophic factors				
GDNF (pg/mL) Means (± SD)	**43.83 (± 51.25)**	**35.73 (± 36.31)**	**26.44 (± 9.89)**	**0.25** [a]
BDNF (pg/mL) Means (± SD)	**15.61 (± 2.09)**	**16.94 (± 1.77)**	**16.72 (± 1.70)**	****0.01** [b]

Means ± standard deviation (SD). The normality of each variable was analyzed using the Kolmogorov-Smirnov normality test.
[a]To compare parametric variables between the three independent groups, the two-way analysis of variance (ANOVA) test followed by Tukey's test was used.
[b]To compare non-parametric variables between the three independent samples, the Kruskal-Wallis test was used. Dunn's post hoc test was performed for pairwise comparisons if the main effects were significant. Statistical significance was set at ** p <0.01 for all tests.

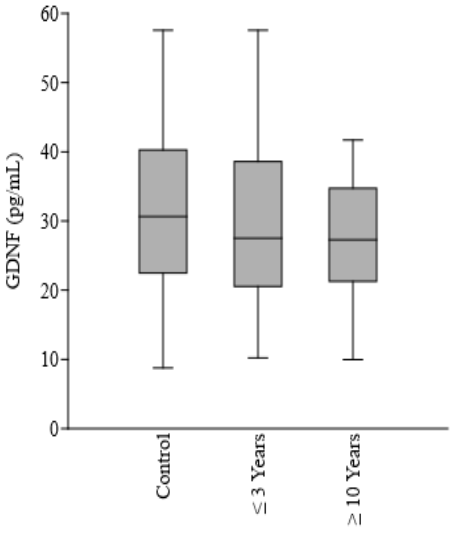


Figure 1 – Box Plot - Comparison of serum levels of GDNF (pg / mL) of healthy control patients with Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

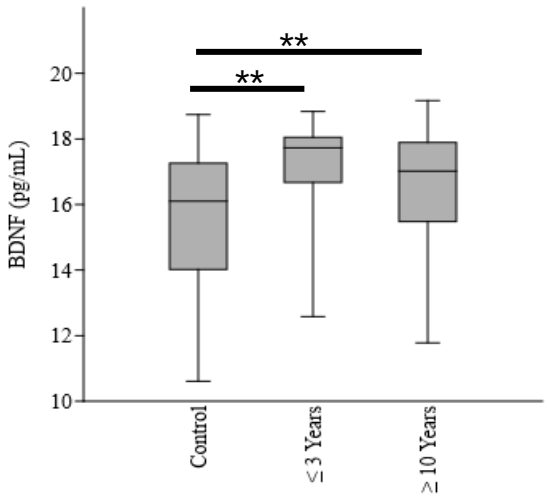


Figure 2 - Box Plot - Comparison of serum levels of BDNF (pg /mL) of healthy control patients with Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

6.2. AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

As **Tabelas 2 e Figs. 3 e 4** mostram a avaliação sérica de IL-6, IL-10, TNF-α do grupo amostral, na forma de média e desvio padrão. Em relação aos parâmetros inflamatórios, os pacientes bipolares em eutimia não apresentaram alterações significativas no TNF-α, IL-6 e IL-10, entre e dentro dos grupos, $p < 0,05$.

Table 2: Comparison of serum levels of inflammatory mediators IL-6, IL-10, and TNF-α in euthymic bipolar patients between the ≤ 3 years and ≥ 10 years groups, since the disease onset compared to the healthy control group.

	Control Patients n = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 years n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 years n= 25	*p* – Value
Inflammatory Mediators				
IL-6 (pg/mL) Means (± SD)	**18.83 (± 7.94)**	**18.75 (± 7.48)**	**18.10 (± 9.19)**	**0.89** [b]
TNF-α (pg/mL) Means (± SD)	**33.81 (± 31.40)**	**24.60 (± 21.30)**	**19.59 (± 20.70)**	**0.18** [b]
IL-10 (pg/mL) Means (± SD)	**11.43 (± 12.82)**	**10.50 (± 8.09)**	**7.97 (± 6.48)**	**0.60** [b]

Means ± standard deviation (SD). The normality of each variable was analyzed using the Kolmogorov-Smirnov normality test.
[b] To compare non-parametric variables between the three independent samples, the Kruskal-Wallis test was used. Dunn's post hoc test was performed for pairwise comparisons, if the main effects were significant. Statistical significance was set at * p <0.05.

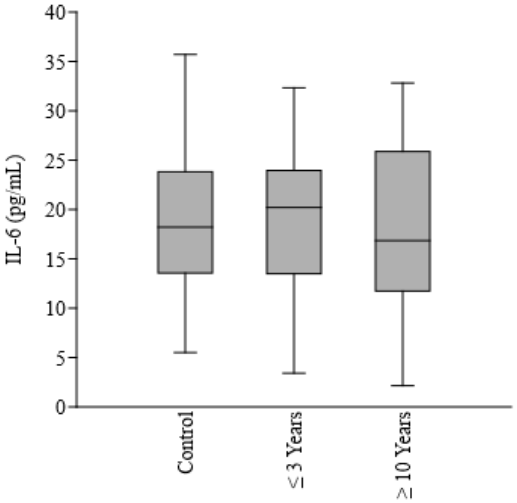


Figure 3 - Box Plot - Comparison of serum levels of IL-6 (pg/mL) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

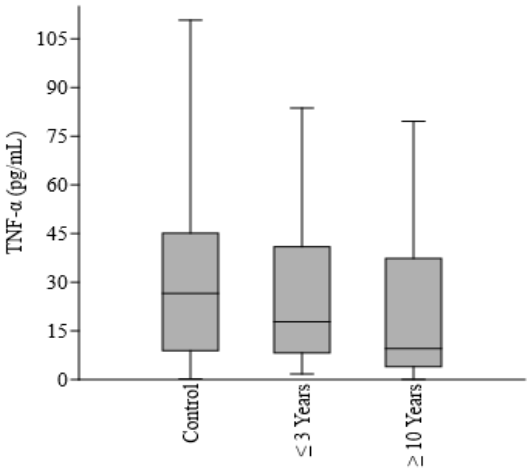


Figure 4 - Box Plot - Comparison of serum levels of TNF-α (pg/mL) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

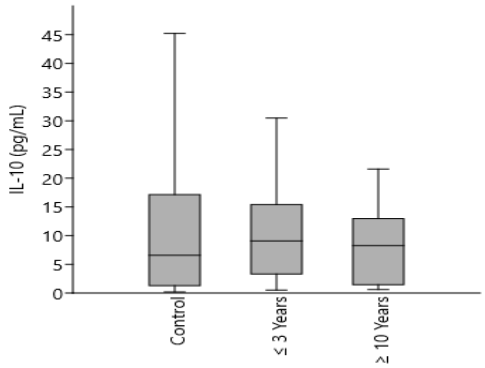


Figure 5 - Box Plot - Comparison of serum levels of IL-10 (pg/mL) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

6.3. AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DOS MEDIADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO EM ERITRÓCITOS

A avaliação das atividades de SOD, GSH-Px e CAT nos eritrócitos e os níveis de TBA-RS no plasma dos grupos amostrais são apresentados na **Tabela 3**, como média e desvio padrão. Em relação aos parâmetros de estresse oxidativo, os pacientes bipolares apresentaram aumento do dano oxidativo aos lipídios, com aumento dos níveis de TBA-RS nos eritrócitos em ambos os grupos (≤ 3 anos e ≥ 10 anos desde o início da doença), em comparação ao grupo controle **[F(2,72) = 21,6; *p* < 0,001] (Fig. 9)**. Em relação à defesa antioxidante, os pacientes apresentaram aumento da atividade da CAT nos eritrócitos em ambos os grupos (≤ 3 anos e ≥ 10 anos desde o início da doença) em comparação com o grupo controle **[F (2,72) = 17,13; *p* < 0,001] (Fig. 8)**, no entanto, não foram observadas alterações na atividade das enzimas SOD e GSH-Px, em nenhum dos grupos **(Figs. 6 e 7).**

Table 3: Comparison of activities of oxidative stress parameters - SOD, GSH-Px, and CAT in erythrocytes and TBARS levels in plasma, between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

	Control Patients n = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 years n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 years n= 25	*p* – Value
Stress Oxidative Parameters				
SOD (units/mg protein) Means (± SD)	5.35 (± 0.26)	5.32 (± 0.39)	5.50 (± 0.42)	0.17 [a]
GSH-Px (units/mg protein) Means (± SD)	5.80 (± 0.99)	5.65 (± 0.95)	6.18 (± 1.48)	0.25 [a]
CAT (units/mg protein) Means (± SD)	3.47 (± 0.77)	8.10 (± 4.18)	9.41 (± 4.95)	** 0.001 [b]
TBA-RS (nmol MDA/mg protein) Means (± SD)	1.62 (± 0.28)	3.18 (± 1.17)	3.01 (± 1.03)	** 0.001 [a]

Means ± standard deviation (SD). The normality of each variable was analyzed using the Kolmogorov-Smirnov normality test.
[a] To compare parametric variables between the three independent groups, the two-way analysis of variance (ANOVA) test followed by Tukey's test was used
[b] To compare non-parametric variables between the three independent samples, the Kruskal-Wallis test was used. Dunn's post hoc test was performed for pairwise comparisons, if the main effects were significant. Statistical significance was set at ** p <0.001 for all tests.

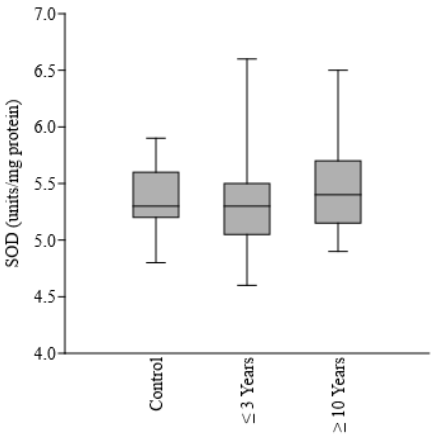


Figure 6 - Box Plot - Comparison of activity of SOD (pg/mL) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

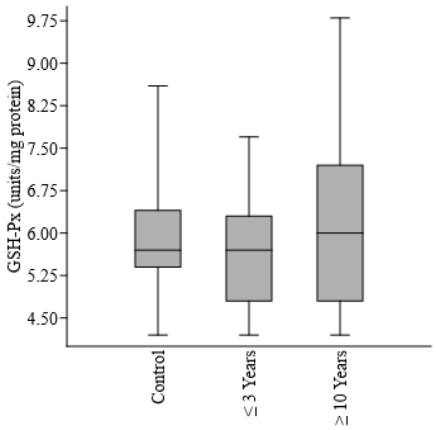


Figure 7 - Box Plot - Comparison of activity of GSH-Px (pg/mL) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

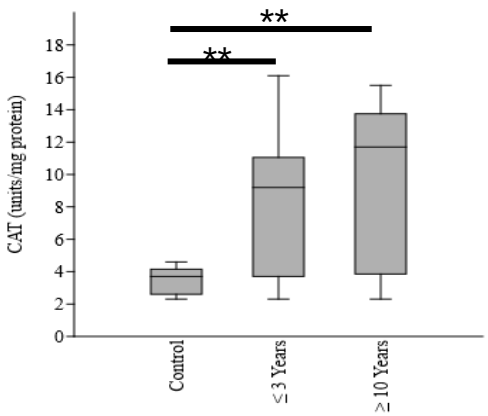


Figure 8 - Box Plot - Comparison of activity of CAT (pg/mL) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

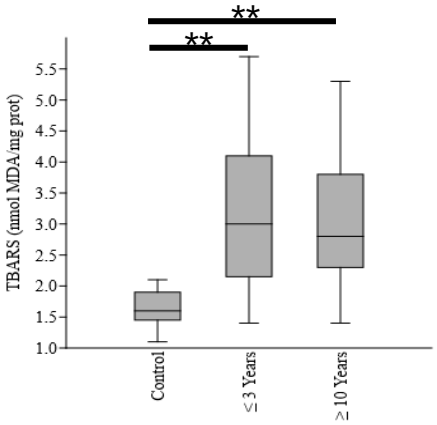


Figure 9 - Box Plot - Comparison of levels of TBARS (nmol MDA/mg prot) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

6.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DAS ENZIMAS DO CICLO DO ÁCIDO TRICARBOXÍLICO EM LEUCÓCITOS

A avaliação das enzimas do ciclo do ATC, citrato sintase e succinato desidrogenase em leucócitos, são apresentadas na **Tabela 4** e **Figs. 10** e **11**, na forma de média e desvio padrão. Quanto ao ciclo do ATC, não foram observadas alterações na atividade dessas enzimas em nenhum dos grupos; ***p* > 0,05.**

***Table 4: Comparison of activity of the citrate synthase and succinate dehydrogenase enzymes in leucocytes** between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.*

	Control Patients n = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 years n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 years n= 25	*p* – Value
Tricarboxylic Acid Cycle enzymes				
Citrate synthase (nmol/min x mg protein) Means (± SD)	**1.50 (±0.39)**	**1.76 (±0.53)**	**1.68 (±0.38)**	**0.15** [a]
Succinate dehydrogenase (nmol/min x mg protein) Means (± SD)	**3.29 (±1.67)**	**2.83 (±2.05)**	**3.33 (±1.49)**	**0.06** [b]

Means ± standard deviation (SD). The normality of each variable was analyzed using the Kolmogorov-Smirnov normality test.
[a] To compare parametric variables between the three independent groups, the two-way analysis of variance (ANOVA) test followed by Tukey's test was used
[b] To compare non-parametric variables between the three independent samples, the Kruskal-Wallis test was used. Dunn's post hoc test was performed for pairwise comparisons, if the main effects were significant. Statistical significance was set at * p <0.05 ** p <0.01 for all tests.

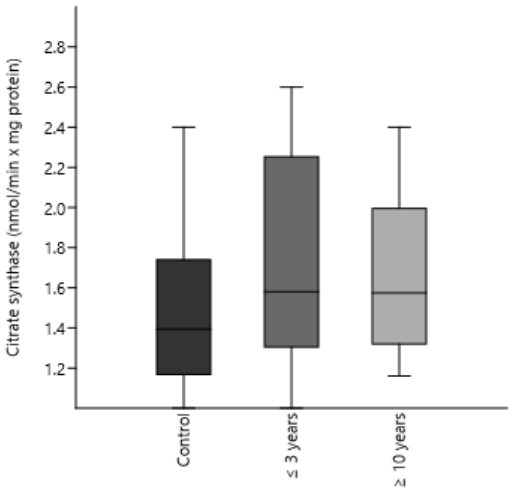


Figure 10 - Box Plot - Comparison of activity** of Citrate synthase (nmol/min x mg protein) between the healthy **control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

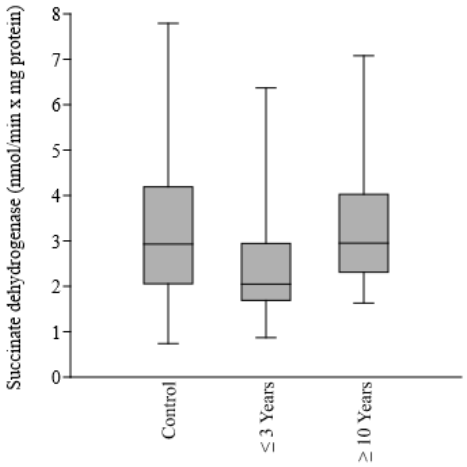


Figure 11 - Box Plot - Comparison of activityof Succinate dehydrogenase (nmol/min x mg protein) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

6.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DAS ENZIMAS DO METABOLISMO ENERGÉTICO NA CADEIA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS EM LEUCÓCITOS

A **Tabela 5** e as **Figs. 12, 13** mostram a avaliação da atividade na ETC relacionada aos complexos I e II do metabolismo energético, nos leucócitos do grupo amostral, na forma de média e desvio padrão. Quando analisamos a cadeia respiratória mitocondrial, os pacientes bipolares em eutimia apresentaram uma melhora na atividade dos complexos I e II nos leucócitos. Em relação ao complexo I, os pacientes apresentaram aumento da atividade leucocitária em ambos os grupos (≤ 3 anos e ≥ 10 anos desde o início da doença), em relação ao grupo controle **[F(2,72) = 5,921; df = 72; *p* < 0,01].** Em relação ao complexo II, os pacientes apresentaram aumento da atividade leucocitária apenas no grupo ≥ 10 anos, desde o início da doença, em comparação ao grupo ≤ 3 anos e ao grupo controle **[F(2,72) = 4,828; df = 74; *p* < 0,01].**

Table 5: Comparison of the ETC complexes I and II enzymeS activity in leukocytes between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

	Control Patients n = 25	Euthymic Patients BD ≤ 3 years n= 25	Euthymic Patients BD ≥ 10 years n= 25	*p* – Value
ETC complexes I and II enzyme activity				
Complex I (nmol/min x mg protein) Means (± SD)	**335.39 (± 167.63)**	**461.88 (± 162.76)**	**561.21 (± 328.13)**	**** 0.01** [b]
Complex II (nmol/min x mg protein) Means (± SD)	**2.43 (± 0.95)**	**2.66 (± 1.17)**	**3.42 (± 1.38)**	**** 0.01** [b]

Means ± standard deviation (SD). The normality of each variable was analyzed using the Kolmogorov-Smirnov normality test.
[b] To compare non-parametric variables between the three independent samples, the Kruskal-Wallis test was used. Dunn's post hoc test was performed for pairwise comparisons, if the main effects were significant. Statistical significance was set at ** p <0.01 for all tests.

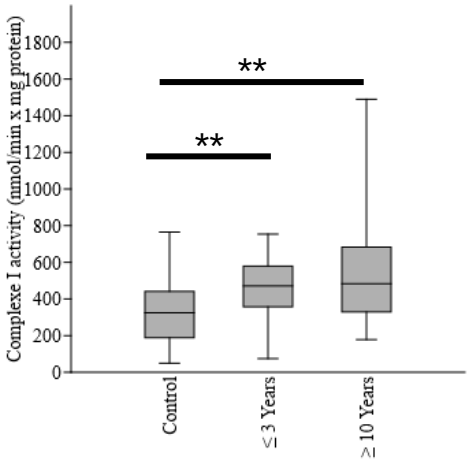


Figure 12 - Box Plot - Comparison of activity of complexe I activity (nmol/min x mg protein) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

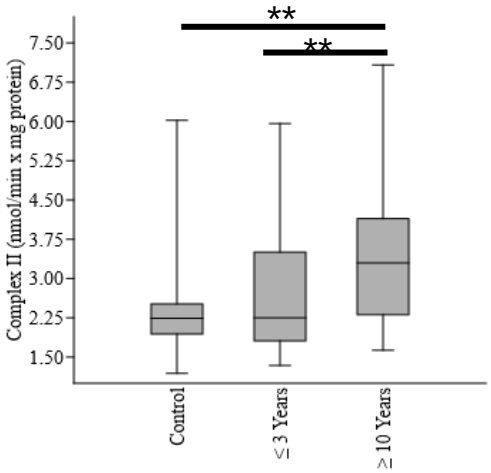


Figure 13 - Box Plot - Comparison of activity of complex II activity (nmol/min x mg protein) between the healthy control patients and the Euthymic bipolar patients with ≤ 3 and ≥ 10 years of the disease.

PARTE IV

Discussão – Conclusões

7. DISCUSSÃO

Esta pesquisa busca corroborar com a hipótese da neuroprogressão, desenvolvida e descrita por Kapczinski e Berk **(Kapczinski *et al*., 2008b; Berk, 2009; Berk *et al*., 2011**) buscando entender como uma patologia que se manifesta inicialmente como um quadro relativamente benigno, pode temporalmente prejudicar o indivíduo desenvolvendo a diminuição da capacidade de raciocínio, planejamento, aprendizagem e alterando o humor de forma consistente. Tudo isso pode levar a uma redução na capacidade de recuperação cognitiva e funcional, a ponto de impedir que um paciente bipolar possa levar uma vida normal. Desta forma, o termo neuroprogressão é usado para denotar as mudanças progressivas que o TB apresenta desde os estágios iniciais até os estágios mais avançados da doença, relacionando a gravidade do TB a redução de resposta ao tratamento e ao número de episódios anteriores. Diversos estudos demonstraram que os neurônios assim como outras células cerebrais, sofrem a partir do primeiro episódio mais intenso do TB danos gradativos, e mais recentemente alguns estudos parecem demonstrar que estas alterações possam surgir até mesmo no período prodrômico da doença. Nosso trabalho observou resultados bastante consistentes com esta teoria. Observamos tanto em relação aos biomarcadores inflamatórios, como em relação às funções cognitivas frontais e a funcionalidade, alterações que reforçam os resultados de outros trabalhos semelhantes **(Berk, 2009; Berk *et al*., 2011; Pfaffenseller *et al*., 2012; Gama *et al*., 2013; Passos *et al*., 2016; Serafini *et al*., 2021).**

Para iniciarmos a discussão dos nossos resultados devemos inicialmente compreender os mecanismos fisiopatológicos da inflamação e subsequentemente da neuroinflamação, a partir de estudos relacionados com a fisiopatologia de outras patologias. Assim, observou-se que pacientes bipolares são mais frequentemente afetados pela síndrome metabólica do que a

população em geral. Essa síndrome é uma constelação de anormalidades metabólicas que predispõem à doença cardiovascular e é altamente prevalente em pacientes com TB em comparação com a população em geral. Em estudos nos EUA e na Itália, 49% e 27% dos pacientes bipolares de cada país apresentavam síndrome metabólica, em comparação com 32% e 17% da população geral respectivamente **(McIntyre *et al*., 2010; Salvi *et al*., 2011).** Em 2001, o National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, formulou uma definição operacional desta síndrome com base na presença de três ou mais das seguintes características: obesidade abdominal (cintura circunferência); hipertrigliceridemia e baixo nível de lipoproteínas de alta densidade do colesterol (HDL-C). A presença da síndrome metabólica confere risco adicional substancial para eventos cardiovasculares e diabetes, bem acima dos riscos quando comparamos cada patologia individualmente **(Laaksonen *et al*., 2002; Lakka *et al*., 2002).** Essa alta mortalidade cardiovascular pode ser explicada pelo fato dos pacientes bipolares apresentarem diversos fatores de risco cardiovasculares, tais como a obesidade, hipertensão arterial, diabetes e hipertrigliceridemia. Com relação à obesidade, 75% dos pacientes com TB nos EUA estão acima do peso, em comparação com a população em geral que é de 60% **(Fiedorowicz *et al*., 2008**; **Garcia-Portilla *et al*., 2009).** Em relação às taxas de hipertensão arterial em pacientes bipolares encontramos uma taxa de 14%, em comparação com a população normal que é de 5,6%, **(Salvi *et al*., 2011; Weiner *et al*., 2011).** Finalmente, as evidências indicam que pacientes bipolares apresentam uma incidência 3 vezes maior de diabetes do que observado na população normal (9,9% contra 3,3%), e metade dos pacientes bipolares têm hipertrigliceridemia em comparação com a população geral **(Kilbourne *et al*., 2004; Fagiolini *et al*., 2005; Fiedorowicz *et al*., 2008).** Desta forma, acreditava-se anteriormente que o TB aumentava o risco cardiovascular devido a fatores que incluíam comportamentos de saúde, funcionamento psicossocial e exposição a medicamentos por longo

prazo **(Lasser *et al*., 2000).** Com relação aos medicamentos psicotrópicos, sabemos que muitos deles contribuem para os fatores de risco cardiovascular. O lítio pode causar ganho de peso e influenciar adversamente o metabolismo da glicose; o ácido valproico está associado a ganho de peso e resistência à insulina; antipsicóticos de segunda geração estão associados à hiperlipidemia, aumento do risco de diabetes e aumento de peso, embora a extensão do ganho dependa de qual antipsicótico é usado **(Newcomer, 2009; Parsons *et al*., 2009).** No entanto, deve ser enfatizado que o aumento da taxa de mortalidade em bipolares é anterior aos tratamentos farmacológicos modernos **(Weiner *et al*., 2011).** Contudo, é importante salientar que, mesmo após o controle desses fatores acima, foi observado uma associação entre fatores relacionados ao risco cardiovascular e TB de forma significativa. Isso sugere a presença de outros mecanismos fisiopatológicos relacionados ao TB que não foram ainda totalmente elucidados **(Fiedorowicz *et al*., 2009**; **Goldstein *et al*., 2009**; **Murray *et al*., 2009).** Assim, a partir de um conjunto de novos estudos sugeriu-se que a inflamação poderia estar implicada na fisiopatologia do TB **(Goldstein *et al*., 2009).** Desta forma, na última década, foi demonstrado que processos inflamatórios e interações neurais imunes também estariam envolvidos na fisiopatologia da depressão maior e do TB **(Maes *et al*., 2011).** Uma das linhas de pesquisas mais intensamente observadas foi a ligação entre níveis aumentados de citocinas e a diminuição de neurotrofinas séricas nos diferentes estados de humor no TB. Estas são vistas como manifestações de um mecanismo fisiopatológico compartilhado que leva a uma doença inflamatória multissistêmica. Evidências revelam que uma inflamação crônica leve na periferia e no cérebro ocorre durante o TB **(Goldstein *et al*., 2009; Hamdani *et al*., 2012),** da mesma forma que processos inflamatórios sistêmicos e cerebrais desregulados, também desencadeiam e propagam aterosclerose, hipertensão, diabetes e obesidade **(Drake *et al*., 2011).** Desta forma, diversos estudos demonstraram que as citocinas acessam o cérebro e interagem com todos os

domínios fisiopatológicos relevantes para o TB. Modelos animais mostraram que as citocinas periféricas atingem o cérebro graças a diferentes mecanismos, incluindo alterações na BHE, transporte ativo, ativação de células endoteliais e ligação a receptores de citocinas **(Miller *et al*., 2009).** Os níveis de citocinas pró-inflamatórias como interleucina-1 (IL-1), IL-2, IL-4, IL-6, fator de necrose tumoral-α (TNF-α) e proteína C reativa (PCR), assim como, interleucinas anti-inflamatórias como a IL-10 encontram-se alteradas nas diferentes fases da doença (mania, depressão e eutimia), assim como podem estar alteradas tanto nos estágios iniciais quanto tardios da mesma. Fenômenos semelhantes também foram observados com as neurotrofinas. Assim, a partir destes conceitos, pode-se compreender melhor os mecanismos relacionados com a neurotransmissão e seu impacto nas mudanças do humor. Desta forma, o processo pró-inflamatório pode ativar o triptofano e a enzima que degrada a serotonina, indoleamina 2-3 dioxigenase (IDO), encontrada elevada no plasma de pacientes bipolares **(Myint *et al*., 2007).** A ativação dessa enzima leva ao aumento do consumo de triptofano, reduzindo assim a disponibilidade da neurotransmissão serotonérgica **(Müller e Schwartz, 2007).** Também foi demonstrado que a atividade do sistema dopaminérgico é reduzida em resposta à inflamação **(Morón *et al*., 2003),** enquanto as citocinas aumentam a recaptação de neurotransmissores monoaminas, reduzindo assim suas concentrações intra-sinápticas no cérebro **(Zhu *et al*., 2006).** Além do efeito direto da inflamação sobre a depleção nas monoaminas, a mesma também é conhecida por induzir EO e nitrosativo, incluindo danos a lipídios, DNA e proteínas, produzindo assim uma disfunção mitocondrial e, consequentemente, aumento da apoptose, danos à membrana celular e agregação de proteínas **(Maes *et al*., 201; vakifahmetoglu-Norberg *et al*., 2017)**. Mudanças dependentes do estágio, com relação ao EO foram relatadas no estágio final mais do que em pacientes em estágio inicial, o que pode ser parte de uma falha progressiva dos mecanismos compensatórios ao longo do tempo, levando ao declínio cognitivo

e à um TB clinicamente mais resistente ao tratamento, podendo em parte, estar subjacente ao processo de estadiamento da doença **(Berk *et al*., 2011).** As citocinas pró-inflamatórias também induzem diminuição nas neurotrofinas, e em particular, níveis de BDNF, levando à diminuição do reparo neuronal e da neurogênese e aumento da ativação na via glutamatérgica que também contribui para a apoptose neuronal **(Leonard, 2010).** Vale ressaltar que o BDNF sérico tem sido associado tanto a alterações nos estados de humor no TB **(Fernandes *et al*., 2010)** quanto nas doenças coronarianas **(Lorgis *et al*., 2010).** Estes fatores descritos até aqui, serão discutidos em maior profundidade mais à frente.

Devido a todas estas alterações inflamatórias produzidas tanto pela síndrome metabólica, como por outras comorbidades (hipertensão arterial e diabetes), nosso grupo preocupou-se desde o início em diminuir os vieses que pudessem interferir na mensuração dos diversos biomarcadores inflamatórios coletados, e nos respectivos resultados. Para tanto, utilizamos critérios bem rígidos de inclusão e exclusão dos pacientes bipolares. Os pacientes deveriam estar em fase eutímica há pelo menos seis meses (não encontramos nenhum artigo que utilizou este tempo de eutimia), sendo que nenhum deles poderiam usar substâncias de abuso, tanto lícitas (tabaco e álcool) como ilícitas. Também, foram excluídos todos os pacientes que apresentaram histórico de doenças neurodegenerativas, câncer ou trauma no último ano; assim como comorbidades médicas significativas, tais como obesidade, diabetes e hipertensão arterial. Finalmente, os pacientes não poderiam estar utilizando medicamentos além dos prescritos para sua condição psiquiátrica e estes deveriam ter sido usados por pelo menos quatro semanas. Contudo, a utilização destes psicofármacos anteriormente citados, em suas diferentes classes (lítio, ácido valproico e antipsicóticos de segunda geração), teriam o potencial de afetar em parte os nossos resultados, pois todos os 50 pacientes bipolares que participaram desta pesquisa estavam medicados. Por outro lado, é importante salientar que, torna-se clinicamente

difícil de um paciente manter-se em eutimia por mais de 6 meses, se não for através do uso contínuo de uma ou mais medicações estabilizadoras do humor.

7.1. Discussão dos resultados dos mediadores inflamatórios e substâncias neuroprotetores.

Pesquisas indicam que nesse transtorno, o cérebro produz certos compostos em níveis alterados com características nocivas, alterando assim o funcionamento das células, podendo causar danos irreparáveis à medida que as crises se sucedem. Simultaneamente, o aumento dos níveis dessas substâncias, produziria uma diminuição nos compostos neuroprotetores produzidos pelo organismo. Dentre estas substâncias pró e anti-inflamatórias nosso trabalho focou na IL-6, no TNF-α e na IL-10. Em relação às substâncias neuroprotetoras, nosso grupo estudou duas delas, BDNF e GDNF. Iremos discutir inicialmente os mediadores pró e anti-inflamatórios.

Tanto as células imunológicas periféricas quanto as células cerebrais (astrócitos, oligodendrócitos, células microgliais e neurônios); estão associadas a liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias elevadas **(Barbosa *et al*., 2011a; Barbosa *et al*., 201**4; **Anderson e Maes, 2015).** O desequilíbrio entre elas, tem sido implicado na neuroinflamação, causando toxicidade e apoptose de neurônios e células gliais **(Dong e Zhen, 2015**; **Réus *et al*., 2015; Muneer, 2016; Vakifahmetoglu-Norberg *et al*., 2017),** levando à neuroprogressão no TB, bem como em outras doenças psiquiátricas **(Kato *et al*., 2013; Zhang *et al*., 2021).** A hipótese prevalecente é que o sistema imunológico é cronicamente ativado no TB, principalmente por meio da ativação microglial, que leva a um desequilíbrio de citocinas e quimiocinas pró e anti-inflamatórias, que no que lhe concerne podem desregular o humor. Essa hipótese surgiu após um número significativo de pacientes com hepatite C, tratados com interferon (IFN-α), apresentarem

sintomas depressivos ou maníacos **(Hoyo-Becerra *et al*., 2014).** Não está claro como as citocinas periféricas afetam os processos inflamatórios no SNC, visto que elas não cruzam facilmente a BHE em condições fisiológicas **(Patel e Frey, 2015; Dong e Zhen, 2015**; **Muneer, 2016).** Além disso, estudos *post mortem* mostraram um aumento ou diminuição em vários fatores pró e anti-inflamatórios no córtex pré-frontal, hipocampo e giro cingulado de pacientes com TB **(Rao *et al*., 2010; Sneeboer *et al*., 2019).** Da mesma forma, muitas das alterações nos níveis de citocinas encontradas entre pacientes bipolares são semelhantes às observadas na esquizofrenia e na depressão maior durante as fases aguda e crônica da doença **(Hope *et al*., 2009; Momtazmanesh *et al*., 2019).** Assim, a neuroinflamação no TB está tipicamente associada a presença de substâncias pró-inflamatórias e a ativação das células microgliais, sendo estas células as principais fontes de EROs no cérebro que será discutido mais a frente **(Kato *et al*., 2013; Réus *et al*., 2015).** Numerosos estudos avaliaram as concentrações séricas de citocinas (IL, IFN, TNF), fatores de transformação do crescimento e quimiocinas em pacientes com TB. Pesquisas apontam para um aumento principalmente dos fatores pró-inflamatórios como as, IL-1b, IL-6 e TNF-α, resultando em aumento da poda sináptica e fagocitose microglial **(Barbosa *et al*., 2011a; Lee *et al*., 2015b; Sochocka *et al*., 2017; Liu *et al*., 2019; Milan-Mattos *et al*., 2019; Forrest *et al*., 2018; Formanova *et al*., 2019; Kany *et al*., 2019; Pawluk *et al*., 2020).** Por outro lado, vários estudos mostram que citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13, IGF-1 (fator de crescimento insulina símile-1), TGF-ß (Fator de transformação do crescimento beta), aumentam a liberação de BDNF e inibem a atividade pró-inflamatória da micróglia. Recentemente, alguns estudos avaliaram a circulação de mediadores inflamatórios durante as diferentes fases do TB como potenciais biomarcadores para diagnóstico ou tratamento, porém ainda inconclusivos **(Bhattacharya *et al*., 2016; Goldsmith *et al*., 2016; Sigitova *et al*., 2017; Rowland *et al*., 2018).**

Vários estudos demonstraram um aumento no soro, durante as fases maníaca e depressiva, das IL-6, IL-1, IL-2, TNF- α e TNFR1, em comparação com controles e pacientes eutímicos **(Brietzke *et al*., 2009a**; **Barbosa *et al*., 2011a; Modabbernia *et al*., 2013**; **Luo *et al*., 2016)** enquanto a concentração de IL-4 de ação anti-inflamatória, foi significativamente menor do que nos controles **(Kim *et al*., 2007).** No entanto, muitos estudos se mostraram contraditórios, os quais encontraram concentrações de IL-6 elevadas na mania e eutimia, porém não na depressão bipolar **(Uyanik *et al*., 2015; Jacoby *et al*., 2016).** Outras mudanças nestes biomarcadores foram observadas durante diferentes fases após o tratamento da doença aguda. Como exemplo, os níveis do antagonista do receptor de interleucina endógeno (IL-1RA) que foram menores no estágio maníaco entre os pacientes crônicos. Contudo, a IL-6 foi maior na fase eutímica, mas não durante a fase depressiva em comparação com os controles. Além disso, na IL-1ß os níveis também foram significativamente elevados no TB crônico durante a eutimia **(Hamdani *et al*., 2013**; **Goldsmith *et al*., 2016).** Esta IL-1 ativa o fator de transcrição NF-kB, que no que lhe concerne aumenta a expressão e liberação de IL-6, IL-8 e IFN-γ **(Magalhães *et al*., 2012b; Kany *et al*., 2019).** Estes resultados conflitantes provavelmente se devem aos diferentes desenhos descritos nas diversas pesquisas, onde em alguns trabalhos se utilizavam pacientes bipolares com ou sem uso de psicofármaco, metodologias diferentes para a mensuração dos mediadores inflamatórios (ELISA, EIA e citometria de fluxo) e cuidados maiores ou menores nos critérios de inclusão e exclusão dos pacientes. Além disso, as pesquisas focavam em diferentes especificações dos pacientes bipolares (Tipo I, Tipo I/II, ciclotímicos ou sem distinção das especificações).

Assim, em nosso trabalho, apesar dos grupos controles apresentarem médias mais altas nos três mediadores (IL-6, TNF-α, IL-10) mensurados, quando estes são comparados com os grupos de pacientes eutímicos com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos desde o início da doença, observou-

se que não houve nenhuma alteração estatisticamente significativa entre os grupos **[*ver item – resultados - do artigo 4 - pg 111-113*]**. A média mais baixa nos grupos com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos, em relação a IL-6 e TNF-α, parece confirmar com diversos estudos na literatura. Uma hipótese levantada para estes resultados, seria que, todos os pacientes estavam em eutimia há mais de 6 meses e medicados de forma contínua, o que produziria uma diminuição das citocinas pró-inflamatórias. Contudo, os resultados da IL-10 foram mais difíceis de serem explicados. A diminuição mais acentuada encontrada nos dois grupos de pacientes eutímicos em relação ao controle não parece apresentar uma razão fisiopatológica, haja vista que deveria ocorrer um aumento desta citocina anti-inflamatória. Uma das possíveis causas para explicar este resultado poderia ser um número pequeno de amostras (n= 25) em cada grupo, associado há um grande desvio padrão. Necessitaríamos talvez realizarmos um novo estudo com mais pacientes, o qual pretendemos fazê-lo no futuro.

Quando buscamos na literatura os estudos realizados com pacientes eutímicos, vemos os resultados mostrarem-se conflitantes, apresentando um desequilíbrio entre citocinas pró (**Hope *et al*., 2011; Cetin *et al*., 2012; Barbosa *et al*., 2011a)** e anti-inflamatórias (**Brietzke *et al*., 2009b, Hope *et al*., 2011)** ou até mesmo não apresentando diferença significativa nas concentrações de citocinas em relação aos controles sadios **(Remlinger-Molenda *et al*., 2012; Barbosa *et al*., 2012; Brietzke e Teixeira, 2010**). Um dos estudos que mais se aproxima do desenho do nosso trabalho, foi produzida por **Kauer-Sant'Anna *et al*. (2009).** Nele, os autores pesquisaram pacientes somente com TB tipo I em Eutimia (nosso grupo utilizou TB tipo I/II) com diagnóstico de < 3 anos (n= 30) e > 10 anos (n= 30) de doença, comparando com 60 pacientes controles. Todos os pacientes utilizavam psicofármacos como no nosso trabalho. Contudo, diferentemente do nosso estudo, os pacientes apresentavam comorbidades importantes e usavam outros medicamentos prescritos para a condição não psiquiátrica. O

resultado encontrado por eles foi um aumento nos mediadores TNF-α, IL-6 e IL-10 no grupo com menos de 3 anos de doença, e um aumento do TNF-α, IL-6, porém sem diferença em relação a IL-10 no grupo com o diagnóstico com mais de 10 anos. Este resultado se mostra muito diferente dos nossos, onde eles demonstraram um perfil pró-inflamatório na fase eutímica, que parece ser mais acentuado em pacientes com maior tempo de TB. Contudo, **Berk *et al*. (2011)** e **Hamdani *et al*. (2012)** relataram que a IL-10, a qual apresenta ação anti-inflamatória, aumentou nos estágios iniciais da doença, porém diminuiu nos estágios finais. Esses dados são consistentes com a neuroinflamação progressiva crônica, onde um número mais significativo de episódios anteriores, exibem níveis mais elevados de TNF-α e IL-6 durante todos os estados de doença. Desta forma, **Rowland *et al*. (2018)** concluíram que, embora nenhum biomarcador isoladamente consiga diferenciar as fases do humor ou avaliar os estágios da doença, combinações específicas incluindo IL-6, BDNF, TNF-α, TNFR1, IL-2, IL-10 e IL-4, permitem uma possível correlação com os estágios, demonstrando uma ligação possível entre o sistema imunológico e as vias fisiopatológicas do TB.

Quanto aos neuroprotetores BDNF e GDNF, observou-se na nossa pesquisa alterações nas concentrações do BDNF, porém não no GDNF. Embora o GDNF seja considerado um dos mais potentes fatores neurotróficos e largamente encontrado em diferentes regiões cerebrais, suas funções principais são: 1- desenvolvimento e manutenção de células gliais, 2- estímulo ao crescimento e regeneração de células nervosas, especialmente os neurônios dopaminérgicos, serotoninérgicos e noradrenérgicos no cérebro **(Sarabi *et al*., 2000; Ducray *et al*., 2006).** Os mecanismos de secreção do GDNF e ativação de seus precursores ainda são pouco conhecidos **(Airaksinen e Saarma, 2002).** Contudo, tanto **Takebayashi *et al*. (2006),** quanto **Otsuki *et al*. (2008),** quantificaram as concentrações séricas do GDNF, em 30 e 42 pacientes bipolares respectivamente, em diferentes fases (mania, depressão e eutimia), fazendo todos eles, uso de

psicofármacos. As concentrações de GDNF eram inferiores nos episódios de humor (depressão e mania), quando comparados com os controles saudáveis (p <0,01). Entretanto, não foi observado diferenças entre os grupos eutímicos de pacientes com o grupo controle. Em outro estudo, **Rosa *et al*. (2006),** ao avaliar 44 pacientes bipolares eutímicos e 60 pacientes com depressão unipolar em remissão, não medicados, não encontrou diferenças significativas quando comparados a controles saudáveis. Entretanto, resultados conflitantes foram encontrados. **Barbosa *et al*. (2011b),** estudando 70 pacientes (35 eutímicos e 35 em mania) e comparando com 50 pacientes controles, demonstrou não haver diferença significativa dos níveis plasmáticos entre pacientes em mania e controles. Porém, quando comparou pacientes eutímicos com pacientes em fase maníaca e pacientes controles, observou-se uma maior concentração do GDNF do grupo eutímico (p < 0,05). Em outra pesquisa **Zhang *et al*. (2015),** demonstraram que os níveis de GDNF sérico estavam reduzidos em pacientes durante episódios maníacos e depressivos, porém, após tratamento com estabilizadores do humor, estes aumentavam. A maioria destes estudos estão em linha com nossos resultados, que demonstrou que durante a fase de eutimia, apesar de observarmos uma leve diminuição da concentração de GDNF sérica, tanto no grupo de ≤ 3 anos, como no grupo ≥ 10 anos, estes não foram significativos em relação ao grupo controle. Entretanto, quando comparamos as concentrações entre os grupos (≤ 3 anos e ≥ 10 anos), apesar de não serem significativamente diferentes, demonstraram que o grupo ≥ 10 anos de doença apresentou uma concentração menor dos níveis de GDNF sérico que o grupo ≤ 3 anos de doença **[*ver item – resultados - do artigo 4 - pg 111-113*]**. Isso levanta a hipótese de que com o tempo, mesmo em eutimia, o organismo demonstra dificuldade de manter o GDNF em quantidades próximas ao normal. Também devemos considerar que a totalidade dos nossos pacientes faziam uso contínuo de estabilizadores do

humor, o que poderia reforçar a ideia que estes medicamentos ajudem a elevar as concentrações do GDNF nos pacientes eutímicos.

Em relação ao BDNF, tem se dado importância especial, pois é a neurotrofina que mais intensamente se encontra distribuída no SNC **(Murer *et al*., 2001),** apresentando capacidade de regular diversas funções biológicas tais como neuroplasticidade, crescimento axonal, apoptose neuronal, além de responder localmente a diversos estressores neuronais e ambientais **(Qian *et al*., 2007).** Conforme a fase do desenvolvimento, os efeitos produzidos pelo BDNF podem variar. Desta forma, o BDNF é importante na fase fetal para a formação e maturação neuronal, contudo, na fase adulta, o mesmo apresenta papel fundamental no processo de consolidação da memória episódica **(Post, 2007),** mantendo-se estável até 40 anos quando começa então a cair sua concentração **(Katoh-Semba *et al.*, 2007).** As concentrações séricas do BDNF podem alterar-se devido a uma série de patologias, tais como: crises epilépticas **(Marini *et al*., 2007),** hipóxia cerebral **(Tapia-Arancibia *et al*., 2004; Marini *et al*., 2007)** e uso de glicocorticoides **(Kumamaru *et al*., 2008).** Também influências ambientais, sejam elas agudas ou crônicas, afetam os níveis de BDNF cerebrais. Um estudo observou que um dia de privação materna em ratos, produzia uma diminuição significativa nos níveis de BDNF no hipocampo, e quando este estresse é prolongado acaba resultando em danos persistentes e significativos no hipocampo e regiões corticais **(Roceri *et al*., 2002; Roceri *et al*., 2004; Liu *et al*., 2020).** Com relação às doenças neuropsiquiátricas, em especial o TB, observamos uma variabilidade muito grande em relação aos resultados. Estudos com pacientes em mania, encontraram diminuições nas concentrações séricas de BDNF em relação aos controles **(Cunha *et al*., 2006; Machado-Vieira *et al*., 2007b; Tramontina *et al*., 2009; Munkholm *et al*., 2016).** Entretanto, quando os pacientes atingiam a eutimia apresentavam melhora dos níveis séricos de BDNF, não diferindo dos controles **Tramontina *et al*. (2009).** Contrariamente, **Yoshimura *et***

***al*. (2006),** observaram que pacientes bipolares em mania não apresentavam diferenças em relação a controles. Por outro lado, **Palomino *et al*. (2006)** e **Tunçel *et al*. (2020)** que acompanharam pacientes desde seu primeiro episódio maníaco com quadro psicótico durante um ano, utilizando estabilizadores do humor, observaram elevações nos níveis plasmáticos de BDNF associadas à melhora clínica. Apesar disso, os níveis plasmáticos mantiveram-se menores em relação aos controles. Os pesquisadores associaram essa melhora ao uso de estabilizadores do humor. Também utilizando-se modelo de mania em ratos Wistar, através da utilização de anfetamina por 7 dias, observou-se elevação nos níveis de BDNF no hipocampo, quando estes foram tratados posteriormente com estabilizadores de humor (lítio e ácido valproico**) (Frey *et al*., 2006; Tunca *et al*., 2014).** Também com relação aos pacientes em episódios depressivos comparados com pacientes controles saudáveis encontramos grande diversidade nos resultados. Em duas pesquisas **(Mackin *et al*., 2007; Otsuki *et al*., 2008),** não apresentaram alterações nos níveis séricos de BDNF; contudo, em dois trabalhos **(Cunha *et al*., 2006; Yoshimura *et al*., 2006),** observaram diminuições nos níveis séricos de BDNF em relação aos controles saudáveis. Também, tanto **Cunha *et al*. (2006)** como **Machado-Vieira *et al*. (2007b)** descreveram uma correlação negativa entre os níveis de BDNF e a intensidade dos sintomas depressivos e maníacos, em pacientes não medicados. Também foi observado em estudos tanto com animais como humanos uma diminuição da expressão do BDNF a partir do aumento do dano oxidativo. Por outro lado, foi demonstrado que o BDNF estimula a expressão e as atividades de GSH-Px e SOD; resultando em dano oxidativo reduzido **(He e Katusic, 2012; Valvassori *et al*., 2015; Wang *et al*., 2020).**

Em relação aos pacientes em eutimia, **Cunha *et al*. (2006)** e **Binici *et al*. (2016)** observaram que não houve alterações dos níveis séricos entre pacientes eutímicos e pacientes controle saudáveis. Por outro lado, **Monteleone *et al*. (2008),** observaram diminuições dos

níveis de BDNF em pacientes bipolares, em eutimia. Curiosamente, **Kauer-Sant'Anna *et al*. (2009)** observaram que pacientes bipolares eutímicos com evolução da doença menor que 3 anos não apresentavam alteração dos níveis séricos; contudo, o grupo que apresentava evolução da doença maior que 10 anos, demonstrou diminuições em relação aos controles. Outro estudo interessante foi de **Tseng *et al*. (2008),** onde os pesquisadores avaliaram a produção de BDNF em células linfocitária de 12 pacientes bipolares eutímicos, há 3 anos em monoterapia com lítio, e compararam com 14 familiares sem doenças psiquiátricas, e 13 controles saudáveis. Observou-se que os linfócitos de pacientes bipolares apresentavam diminuição de BDNF sérico importante, quando comparados aos demais grupos.

No nosso trabalho, todos os pacientes se encontravam há 6 meses eutímicos, um tempo maior que a média dos artigos, e associado a isso, todos os pacientes estavam medicados por longo tempo. Assim, observamos um aumento significativo dos níveis de BDNF tanto do grupo de ≤ 3 anos como no grupo com ≥ 10 anos de doença em relação ao grupo controle. Contudo, quando comparamos somente os dois grupos de pacientes bipolares eutímicos isoladamente, não observamos alterações significativas. Isso reforça a ideia de que pacientes em eutimia e tratados, apresentam uma melhora da resposta clínica e da organização neuronal. Esta melhora dos níveis de BDNF já ocorre desde do início do tratamento, pois pacientes com menos de 3 anos de doença, tratados e em eutimia, já demonstram níveis de BDNF altos. Assim, o diagnóstico e o tratamento precoce parecem ser vantajosos para os pacientes, estando os nossos resultados em linha com estudos realizados por **Duman e Monteggia, (2006)** e **Banasr e Duman, (2008).** Nestes trabalhos, os autores demonstraram que psicofármacos como o lítio e o ácido valproico, utilizados no tratamento do TB de forma contínua, poderiam agir sobre as neurotrofinas, modulando suas vias de sinalização e aumentando seus níveis no córtex frontal e no hipocampo como observado em outras pesquisas **(Frey *et al*., 2006; Jornada *et al*., 2010;**

Paul *et al*., 2020). Contudo, diversos estudos demonstram uma diminuição dos níveis de BDNF e do seu receptor TrkB (receptor de tropomiosina quinase), tanto no sangue, quanto no cérebro de pacientes bipolares quando não tratados **(Matsumoto *et al*., 2008; Kapczinski *et al*., 2009b; Ray *et al*., 2011; Huang *et al*., 2012).** Se analisarmos estes resultados bioquímicos, a luz das análises dos testes FAST e FAB, podemos observar que, desde o início do TB, as alterações cognitivas e funcionais estão presentes **[*ver resultados no artigo 3*]**. Assim, estudos como de **Rybakowski *et al*. (2003)** demonstraram uma significativa relação entre o desempenho em testes neuropsicológicos, envolvendo o córtex frontal de pacientes bipolares e um possível dano neuronal, desenvolvendo um prejuízo cognitivo, possuindo a via do BDNF um papel-chave no TB **(Soontornniyomkij *et al*., 2011; Ray *et al*., 2011; Huang *et al*., 2012).** Assim, podemos hipotetizar que o paciente bipolar, apresenta um processo neuro inflamatório no cérebro a partir já dos primeiros episódios de mania e depressão. Todos esses eventos envolvem uma reorganização patológica no cérebro, portanto, estão associados a modificações morfológicas, como a redução de volume no córtex e da substância branca, principalmente do córtex pré-frontal, objeto de nosso estudo, levando a perdas cognitivas e funcionais desde o início **(Adler *et al*., 2004; Beyer *et al*., 2005; Abé *et al*., 2015; Szmulewicz *et al*., 2020).** Essas alterações do córtex pré-frontal são possivelmente secundárias a múltiplos episódios de mania e depressão durante suas vidas. Além disso, também o número de hospitalizações e a duração da doença em pacientes bipolares, podem causar alterações em seu desempenho neurocognitivo, com impacto em sua funcionalidade diária e em aspectos psicossociais (**McEwen e Gianaros, 2011; Grande *et al*., 2012; Fagiolini *et al*., 2013; Mwangi *et al*., 2016).** O córtex pré-frontal é uma região heterogênea que compreende várias sub-regiões especializadas, nas quais as FE representam apenas uma categoria funcional nos lobos **(Szmulewicz *et al*., 2020).** Esta é uma região que se comunica com todo o cérebro, recebendo e enviando projeções de todos os tipos. Integra-se

com o sistema límbico, sistema reticular, hipotálamo e sistemas de neurotransmissores (**Stuss, 2011),** envolvendo a amígdala, o córtex pré-frontal dorsolateral, ínsula e áreas cinguladas anteriores **(Frangou *et al*., 2002; López-Larson *et al*., 2002; Bora *et al*., 2010; Goodkind *et al*., 2015; Abé *et al*., 2015; Miller e Cummings, 2017).** Através de neuroimagem, foi possível a compreensão da estrutura e função neural subjacente aos processos cognitivos e foi possível diferenciar as áreas do córtex pré-frontal responsáveis pelos diferentes componentes da FE, com três regiões principais: a orbitofrontal, a ventromedial e a região dorso-lateral. Cada região apresenta funções específicas, e qualquer alteração neurofuncional produz prejuízos com mudanças comportamentais e clínicas **(Bonelli e Cummings, 2007; Power *et al*., 2011; Arnsten e Rubia, 2012; Yang *et al*., 2018).** Prejuízos nas FE, impulsividade e apatia, por exemplo, são características de disfunções do circuito frontal-subcortical e distúrbios neuropsiquiátricos, como no transtorno de déficit de atenção/hiperatividade, transtorno obsessivo-compulsivo, esquizofrenia e também no TB. Recentemente, diversos pesquisadores têm buscado relacionar os seis domínios presentes no teste FAB, com diferentes redes neurais **(Lima *et al*., 2008; Nagata *et al*., 2011; Hoffmann, 2013; Pellecchia *et al*., 2015; Brugger *et al*., 2015; Hurtado-Pomares *et al*., 2018; Yang *et al*., 2021) [*Para melhor compreensão deste assunto, ler o item — resultados e a tabela 13 do artigo 3*].** Em resumo, há ainda poucos estudos avaliando concentrações de BDNF em pacientes bipolares nas suas diferentes fases, sendo os resultados ainda conflitantes e inconclusivos, isso ocorre devido a grande variabilidade de características destes pacientes contribuindo para a não correta inferência do papel do BDNF e de outras neurotrofinas no TB.

7.2. Discussão dos resultados dos mediadores relacionados ao estresse oxidativo.

A oxidação é um processo importante da vida aeróbica e do metabolismo celular, produzindo radicais livres (RLs) de forma natural ou por uma disfunção biológica. Assim, o organismo possui um complexo sistema de proteção antioxidante, como mecanismo de defesa contra os RLs, formados constantemente, e quando em excesso, podem ocasionar a oxidação de moléculas biológicas. O desequilíbrio entre o desafio oxidativo e a capacidade defensiva antioxidante do organismo é denominado EO **(Machado *et al*., 2009).** Esses RLs cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN). Os RLs mais comumente relatados são relacionados principalmente aos átomos de oxigênio, sendo estes RLs moléculas instáveis e altamente reativas com outras moléculas, possuindo pelo menos um elétron desemparelhado na camada mais externa. Este conjunto de substâncias chamadas EROs, são compostas pelos seguintes elementos: superóxido (O_2•-), hidroxila (OH•), óxido nítrico (NO•), dióxido de nitrogênio (NO_2), peroxil (ROO-) e peroxil-lipídeo (LOO-) **(Lushchak, 2014)** sendo a maioria deles formados através de reações enzimáticas e não enzimáticas **(Reynolds *et al*., 2007; Collin, 2019).**

De todas as EROs, o O_2•- é o principal RL formado pela CTE, portanto, a produção é aumentada em neurônios metabolicamente ativos. Normalmente o O_2 age como molécula receptora de elétrons na CTE, reduzido a H_2O, no entanto, sob determinadas condições, o O_2 aceita apenas um elétron, formando o O_2•-. Ele possui pouca reatividade em meio aquoso, e suas reações podem desencadear a formação de OH• e quando em meio ácido pode formar peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 não é fortemente reativo, mas pode ser tóxico devido à sua longa meia-vida, e sua capacidade de atravessar as membranas lipídicas, prejudicando a permeabilidade da membrana **(Barreiros *et al*., 2006).** Também, reagindo com a membrana eritrocitária e proteínas ligadas ao ferro, causam danos às moléculas por meio da geração de

novas EROs, como OH• **(Moniczewski *et al*., 2015).** O OH• é a espécie biológica mais reativa, podendo danificar, por exemplo, os Complexos I, II e III da CTE. Também pode levar ao mau funcionamento do Complexo do centro de elétrons Fe-S no ciclo do ácido tricarboxílico e afetar o DNAmt, levando a mais EO, resultando em uma redução na produção de energia mitocondrial **(Federico *et al*., 2012; Ghezzi e Zeviani, 2012; Voets *et al*., 2012; Kausar *et al*., 2018).**

Quando a produção de RLs é maior que a capacidade antioxidante endógena, isso leva ao EO **(Barreiros *et al*., 2006; Barbosa *et al*., 2010).** Em células e tecidos saudáveis, vários sistemas de defesa antioxidante enzimáticos e não enzimáticos podem reduzir os danos causados pela produção de RLs. No entanto, a maioria das EROs são neutralizadas por antioxidantes enzimáticos endógenos consistindo em diversas proteínas que metabolizam os RLs, reduzindo as moléculas oxidadas, além de lipídios peroxidados. As enzimas mais conhecidas são, SOD, CAT, GSH-Px, GSHS-transferase, y-glutamilcisteína sintetase, e GSH redutase **(Jeeva *et al*., 2015; Kurutas, 2016).** A SOD atua como a principal enzima protetora contra o EO e danos ao DNA mitocondrial, catalisando a dismutação de O_2•- em H_2O_2 e O_2 **(Gill e Tuteja, 2010; Krishnamurthy e Wadhwani, 2012).** No que lhe concerne, o H_2O_2 é convertido em H_2O e O_2 na maioria dos tecidos pela CAT **(Barbosa *et al*., 2010)** e a GSH-Px inibe a peroxidação lipídica, evitando assim a perda da função da membrana. Como o CAT, ela atua catalisando a redução de H_2O_2 ou RHO_2 em H_2O, usando como co-fator a GSH, oxidada concomitantemente para formar o dímero ligado por dissulfeto **(Espinosa-Diez *et al*., 2015).**

É importante ressaltar que o cérebro é particularmente vulnerável ao dano oxidativo por possuir altas taxa de utilização de oxigênio, (cerca de 25% do O_2 de todos os tecidos), e consequentemente gerando uma maior concentração de EROs, associado a uma fraca defesa antioxidantes devido suas baixas concentrações no SNC, assim como uma constituição rica em lipídios. Tudo isso favorece ao dano oxidativo nas células neuronais e entre os

resultados mais patogênicos do EO nos neurônios, é a peroxidação lipídica da membrana que se auto perpetua, o que resulta em redução da fluidez da membrana e da função de barreira **(Salim, 2017; Ademowo *et al*., 2017).** Assim, alterações nas concentrações EROs e dos antioxidantes e vários produtos de oxidação, sugerem uma possível influência destes, no TB **(Anderson e Maes, 2015)** Níveis oxidativos neuronais aumentados podem ter efeitos deletérios na transdução de sinal, plasticidade e resiliência celular **(Olmez e Ozyurt, 2012; Seymen e Elmas, 2016).** As evidências demonstram que as EROs atuam como segundos mensageiros essenciais na imunidade inata e adaptativa **(West *et al*., 2011; Kaminski *et al*., 2013),** estimulando a geração de citocinas pró-inflamatórias (incluindo IL-1ß, IL-6, TNF-α e interferons) durante a resposta imune para controlar os patógenos e reparar o dano tecidual **(Chen e Nuñez, 2010; Mittal *et al*., 2014).** Portanto, no TB, uma hipótese provável é que uma maior carga de EO seja gerada por um distúrbio fundamental nas funções mitocondriais, desempenhando um papel importante na fisiopatologia do TB e agravando a doença. Assim, estudos mostraram que o aumento do EO serve para sinalizar a disfunção mitocondrial, produzindo uma diminuição na atividade da CTE, podendo ser mensurado tanto no sangue periférico quanto em cérebros *post mortem* de pacientes com TB e alterando o transporte transmembrana **(De Sousa *et al*., 2014c; Ifeanyi, 2018).** Estudos demonstram que quando ocorre aumento do EO, o BDNF diminui em pacientes bipolares, de forma que, reforçando a hipótese de que o BDNF anormal e o aumento do EO observados nesse distúrbio estão inter-relacionados **(Kapczinski *et al.*, 2008a; Kapczinski *et al.*, 2008b; Fernandes *et al*., 2010; Zhang *et al*., 2015; Mansur *et al*., 2016b).** Dois estudos recentes observaram que os pacientes com TB apresentavam uma associação negativa entre os níveis séricos de BDNF e de TBA-RS **(Tsai e Huang, 2015; Newton *et al*., 2017)** e uma associação negativa entre a atividade da SOD e o BDNF **(Kunz *et al*., 2008; Zhang *et al*., 2015).** Assim um corpo crescente de dados,

demonstram que alterações nos níveis de BDNF e em suas vias de sinalização, aumentam o EO, podendo este ser um dos fatores chaves ligados a morte celular cerebral de pacientes bipolares, e consequentemente, uma possível explicação para a fisiopatologia do TB **(Carter *et al*., 2007; Kapczinski *et al*., 2008b; Kapczinski *et al*., 2011).** Além disso, estudos pré-clínicos demostraram que os estabilizadores do humor, (lítio e ácido valproico), conseguem aumentar os níveis de BDNF e proteger o cérebro de ratos contra danos oxidativos **(Jornada *et al.*, 2010; Jornada *et al*., 2012; Varela *et al*., 2015).**

Conforme já descrito acima, as enzimas SOD, CAT e GSH-Px, são consideradas um sistema de defesa antioxidante de primeira linha que desempenha um papel-chave na defesa de sistemas biológicos. Um dos mais importantes e abundantes RL que se formam nas células é o $O_2^{\bullet-}$. As mitocôndrias são importantes fontes de $O_2^{\bullet-}$, tendo a sua origem principalmente nos Complexos I e III da CTE (**ver Fig. 1**). O $O_2^{\bullet-}$, pode causar sérios danos as células. Sendo assim, as mitocôndrias se utilizam da SOD presente em abundância no seu interior, convertendo o $O_2^{\bullet-}$ em H_2O_2.

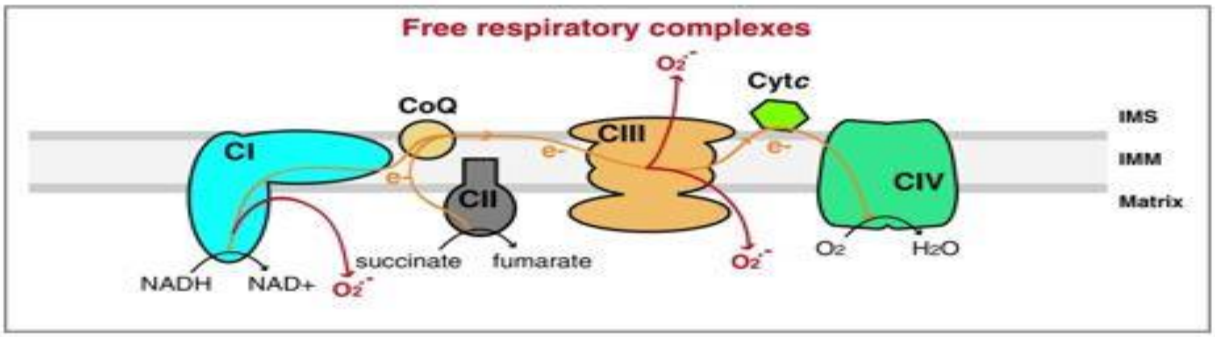


Fig 1. Origem do superóxido a partir da cadeia de transporte de elétrons. Origem da imagem: Kim, *et al.*, (2019). Mitochondria, metabolism, and redox mechanisms in psychiatric disorders. *Antioxidants & redox signaling*, *31*(4), 275-317.

Desta forma, o H_2O_2 gerado, é então parcialmente eliminado pela CAT (que atua fora da mitocôndria) e GSH-Px (que atua dentro da mitocôndria), mas como essa última tem baixa eficiência, grande parte do H_2O_2 é liberado para o citoplasma da célula e eliminada pela CAT

(Halliwell *et al*., 2001). O H_2O_2 quando de forma isolada é praticamente inócuo, e em baixas quantidades tende a regular alguns processos fisiológicos como; sinalização na proliferação celular, morte celular, e ativação plaquetária, sendo pouco reativo frente às moléculas orgânicas quando na ausência de metais de transição como o (Fe^{++} e Cu^{++}) **(Chelikani *et al*., 2004).** Contudo, ao ligar-se ao Fe^{++}, por ser mais disponível no organismo, ocorre uma reação chamada reação de Fenton, podendo gerar a partir dela o radical $HO^{\bullet}$ no interior da célula, sendo este RL o mais lesivo de todos **(Husain *et al*., 1987).** No entanto, em altas concentrações, o H_2O_2 é também muito deletério para as células **(Ercal *et al*., 2001),** (**ver Fig. 2**).

Assim, a CAT é crítica para limitar os danos induzidos pela concentração de H_2O_2 nas células **(Ighodaro e Akinloye, 2018).** Desta forma, a CAT que é uma enzima presente em quase todas as células, e altamente eficiente; busca continuamente, moléculas de H_2O_2, podendo quebrar milhões de moléculas de H_2O_2 por segundo, estando localizada principalmente nos peroxissomos das células de mamíferos. Desta forma, na mitocôndria especificamente, a degradação do H_2O_2 em água e oxigênio é realizada pela GSH-Px.

A partir destas informações da literatura, os nossos resultados parecem corroborar em parte com estas pesquisas. Vários estudos relatam consistentemente, mudanças nas enzimas antioxidantes, na peroxidação lipídica e nos níveis de NO•, durante as fases agudas do TB, sendo estes importantes marcadores do EO **(Steckert *et al*., 2010; Gawryluk *et al*., 2011; Tunçel *et al*., 2015; Siwek *et al*., 2016).** No nosso trabalho não se observou alterações nas concentrações séricas das enzimas SOD e GSH-Px entre os grupos de pacientes bipolares em relação ao grupo controle. Contudo, observamos aumentos significativos na atividade da CAT e dos níveis de TBA-RS séricos, tanto do grupo de ≤ 3 anos como no grupo com ≥ 10 anos de doença em relação ao grupo controle **($p < 0,001$).** O que nos chamou a atenção entre estes dois grupos, foi o fato que mesmo, pacientes que apresentavam menor tempo de evolução da doença, já

apresentavam um forte aumento na atividade da CAT e da peroxidação lipídica, refletido através dos níveis de TBA-RS. Isso parece demonstrar que o EO que se inicia nas fases iniciais, se mantém, apesar de o paciente estar sem manifestação clínica (eutimia). Também conforme já discutido acima, o aumento do EO reduz a expressão do BDNF. Na nossa pesquisa, entretanto, os níveis de BDNF encontravam-se aumentados permitindo assim que a expressão e as atividades da GSH-Px e SOD estivessem normais; resultando desta forma em dano oxidativo reduzido **(He e Katusic, 2012; Valvassori *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2020).**

Outro ponto que deve ser salientado é que todos os nossos pacientes estavam medicados e diversos estudos demonstram que o uso do estabilizador do humor altera o EO, alterando as concentrações das enzimas antioxidantes **(Pfaffenseller *et al*., 2013; Machado-Vieira *et al*., 2014; Young e Juruena, 2020).** Recentemente, **Jiménez-Fernández *et al.*, (2021),** em uma grande meta-análise com 44 estudos analisados, que incluíram 1979 pacientes bipolares e 1788 pacientes controles saudáveis, avaliaram vários marcadores do EO, dentre os quais; SOD, CAT, GSH-Px e TBA-RS; nas diferentes fases da doença (mania, depressão e eutimia) e separando grupos de pacientes que utilizavam ou não medicação. Os resultados encontrados pelos autores refletem parcialmente os resultados de três meta-análises anteriores **(Andreazza *et al*., 2008; Brown *et al*., 2014** e **Rowland *et al.*, 2018).**

Nestas duas primeiras meta-análises não houve diferenças significativas nas defesas das enzimas antioxidantes em pacientes com TB em comparação com controles saudáveis, contudo diferentes fases afetivas do TB não foram consideradas nessas duas meta-análises, nem o efeito de diferentes tratamentos farmacológicos. Em outra recente meta-análise exploratória **Rowland *et al*. (2018),** incluíram 53 estudos, compreendendo 2.467 pacientes com TB e 2.360 controles saudáveis, separados por estado afetivo (eutimia, mania, depressão) e avaliando 14 diferentes biomarcadores para TB, tais como neurotrofinas, marcadores inflamatórios e de EO. Os autores

consideraram as fases da doença, demonstrando que o marcador TBA-RS, estava elevado tanto

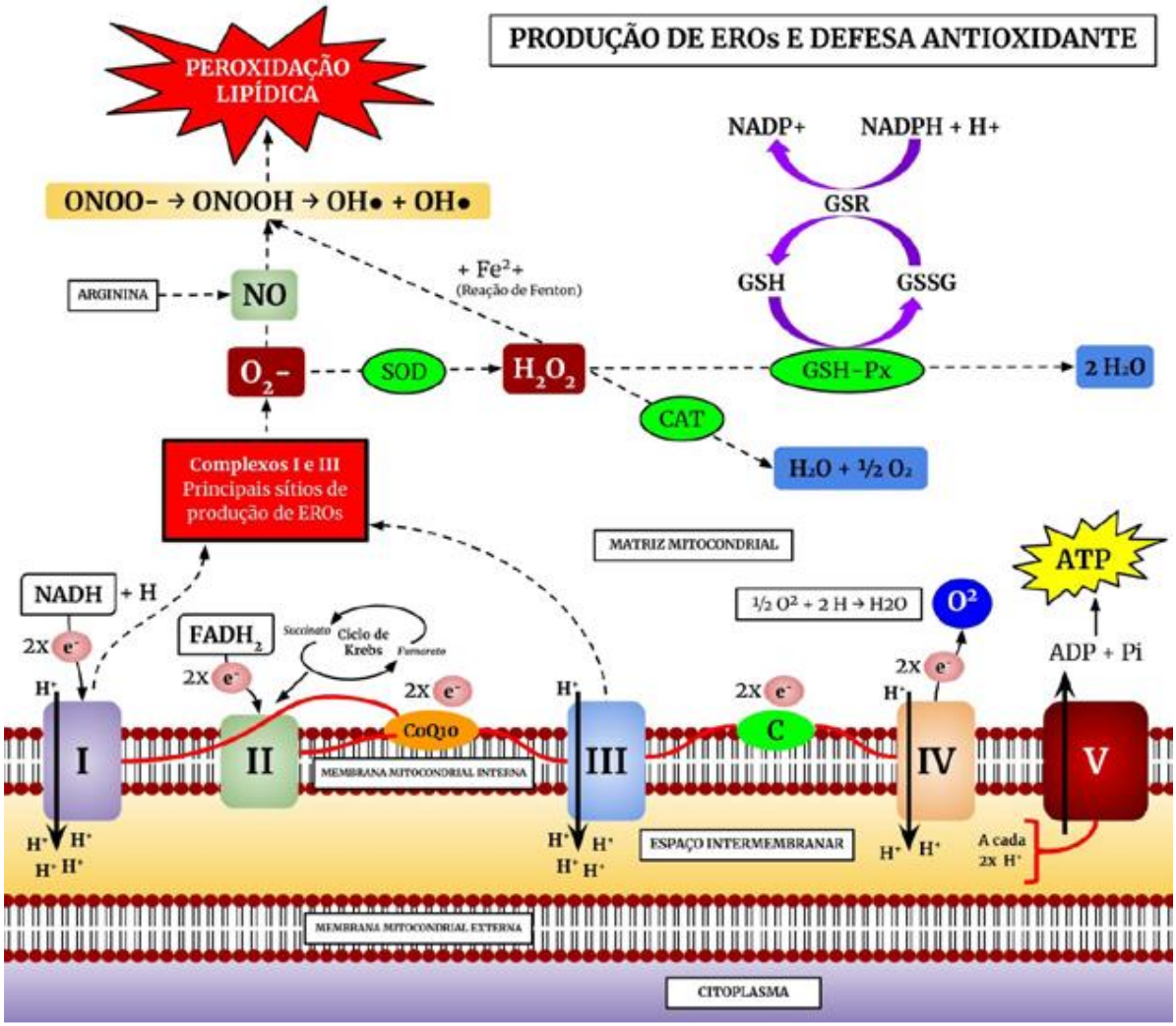


Fig. 2. Sistema de fosforilação oxidativa (OXPHOS) e defesa antioxidante enzimática. Os elétrons derivados do metabolismo celular atingem o Complexo I ou II por meio de NADH, ou $FADH_2$, respectivamente. Esses elétrons são, então, transferidos para a coenzima Q (ubiquinona), uma transportadora de elétrons do Complexo I ou II, para III. Neste último, os elétrons são deslocados do citocromo b para o citocromo c e consequentemente transferidos para o Complexo IV (citocromo C oxidase), quando reduzem o O_2. Esses elétrons são transportados por intermédio de Complexos de proteínas mitocondriais e são acoplados para enviar prótons para o espaço intermembranar. O gradiente eletroquímico gerado é usado pelo Complexo V para a síntese de ATP. Os Complexos I e II são responsáveis pela produção do ânion superóxido (O_2•-), removido pela enzima antioxidante SOD e, em seguida, produz peróxido de hidrogênio (H_2O_2), removido pelas enzimas CAT e GSH-Px. O superóxido (O_2•-) e H_2O_2 podem levar à produção de radicais hidroxila (OH•), causando lipo peroxidação e lesão celular.

na mania quanto na depressão, mas não na eutimia, porém, não consideraram se os pacientes usavam ou não medicação. Entretanto, eles observaram que uma combinação de diferentes biomarcadores, apresentavam taxas alteradas de forma diferenciada durante cada estágio de humor. Este resultado pôde diferenciar pacientes com TB de controles saudáveis e indicar uma

fase específica de humor. Na meta-análise realizada por **Jiménez-Fernández *et al.* (2021),** estes separaram os grupos quanto as fases e dividiram em sub grupos (uso e não uso de medicamentos estabilizadores do humor). Se compararmos os nossos resultados com os desta meta-análise mais completa, vamos encontrar resultados muito semelhantes. Nossos pacientes estavam em eutimia e todos estavam medicados. A meta-análise mostrou que comparado com os controles saudáveis, os pacientes bipolares eutímicos que faziam tratamento medicamentoso apresentaram os seguintes resultados: aumento da atividade da CAT **(*p* <0,02) (Abdalla *et al*., 1986; Ranjekar *et al*., 2003; Andreazza *et al*., 2008**; **Cudney *et al*., 2014; Selek *et al*., 2015);** aumento dos níveis de TBA-RS **(*p* <0,0001) (Ranjekar *et al*., 2003; Andreazza *et al*., 2008**; **Kapczinski *et al*., 2011**; **Banerjee *et al*., 2012; Ezzaher *et al*., 2012**; **Gubert *et al*., 2013; Bengesser *et al*., 2015; Mondin *et al*., 2016; Siwek *et al*., 2016**; **Tatay-Manteiga *et al*., 2019)** e sem diferenças em relação a SOD **(*p* = 0,10)**, **(Abdalla *et al*., 1986; Ranjekar *et al*., 2003; Savas *et al*., 2006; Andreazza *et al*., 2008; Aydemir *et al*., 2014; Cudney *et al*., 2014; Bengesser *et al*., 2015; Mansur *et al*., 2016a);** e a GSH-Px **(*p* = 0,40), (Abdalla *et al*., 1986; Ranjekar *et al*., 2003; Andreazza *et al*., 2008; Andreazza *et al*., 2009; Magalhães *et al*., 2012a; Micó *et al*., 2014; Mansur *et al*., 2016a; Nucifora *et al*., 2017; Singh *et al*., 2019).**

Estes resultados são os mesmos observados em nossa pesquisa, mesmo quando dividimos em dois grupos com (≤ 3 anos e ≥ 10 anos do início da doença) com um aumento da CAT **(≤ 3 anos, p < 0,0001; ≥ 10 anos, p < 0,0001)** e de TBA-RS **(≤ 3 anos, p < 0,0001; ≥ 10 anos, p < 0,0001)** e sem diferença significativa em relação à SOD **(≤ 3 anos, p = 0,9; ≥ 10 anos, p = 0,3) e GSH-Px (≤ 3 anos, p = 0,8; ≥ 10 anos, p = 0,3).** Assim, o nosso trabalho corrobora com outros trabalhos, tendo, contudo, um diferencial com relação aos anteriores, demonstrar que as alterações encontradas em (CAT e TBA-RS) se mantêm tanto em pacientes que iniciaram a patologia há ≤ 3 anos, quanto com aqueles que já apresentam a doença há ≥ 10

anos. Apesar de a atividade da CAT estar envolvida basicamente na remoção do H_2O_2 na célula e encontrar-se mais alta nos pacientes eutímicos, em relação aos controles saudáveis, e a presença de TBA-RS refletir o aumento deste EO nos lipídios das membranas celulares pouco se sabe sobre suas concentrações no organismo com o tempo de evolução da doença. Somente **Selek *et al*. (2015)** ao estudarem a CAT, observaram que existe uma correlação negativa entre a atividade da CAT com a duração da doença bipolar (r^2 = -0,248). Embora a correlação encontrada seja fraca, pode ser um sinal do aumento dos mecanismos compensatórios super-reagentes com a cronicidade da doença. Assim, por não haver correlação significativa entre idade e CAT, a relação deve ser atribuída à doença.

A maior atividade da CAT e o aumento de TBA-RS em pacientes bipolares eutímicos, tanto com pacientes com ≤ 3 anos e mais de ≥ 10 anos de doença em relação a controles saudáveis, sugere uma condição bioquímica aumentada, porém relativamente estável nas concentrações destes elementos durante a eutimia, e sem diferenças importantes com o tempo de doença. Estas alterações bioquímicas persistentes na eutimia, podem ser um sinal da continuidade do distúrbio, apesar da ausência de sintomas clínicos. Em outras palavras, a neuroinflamação persiste na eutimia e a neuroprogressão da doença se mantém em evolução.

Quanto aos níveis significativamente aumentados de TBA-RS tanto nos pacientes bipolares com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos de doença, nos parece altamente plausível pensar que os estímulos estressantes crônicos alteram os níveis de TBA-RS significativamente, como encontrado em nosso trabalho, comprometendo a integridade bioquímica das membranas celulares dos neurônios do córtex pré-frontal, alterando assim a plasticidade, a capacidade regenerativa, a arquitetura dendrítica com o encolhimento desta e a diminuição da conectividade neuronal levando a uma diminuição do BDNF e perturbando assim a neurotransmissão sináptica normal **(Patki *et al.*, 2013; Solanki *et al*., 2017; Guirado *et al*.,**

2020). Também o processo de peroxidação lipídica, oxida os locais extracelulares dos receptores NMDA do glutamato, levando à atenuação dos potenciais de longa duração e neurotransmissão sináptica **(Haxaire *et al*., 2012; Rai *et al*., 2013).** Estes fatores, oferecem uma explicação atraente para o comprometimento cognitivo e comportamental induzido pelo EO e pelo aumento do TBA-RS. Dessa forma, a partir dos resultados dos testes FAB e FAST encontrados em nossa pesquisa e do resultado de outras pesquisas semelhantes **(Patki *et al*., 2013; Solanki *et al*., 2015**; **Burgess e Stuss, 2017),** podemos sugerir que estes resultados reflitam os déficits comportamentais e cognitivos relacionados a diferentes regiões do cérebro em particular ao córtex pré-frontal como descrito acima, a partir das alterações neuronais produzidas pelo aumento de TBA-RS a despeito da estabilidade clínica.

Finalmente, ao avaliar os resultados da SOD e da GSH-Px, observamos que diversos estudos já demonstraram que a atividade da SOD sérica está relacionada aos episódios de humor. A atividade da SOD está aumentada durante as fases maníaca e depressiva, mas não durante a eutimia. Os nossos resultados concordam com vários estudos já realizados **(Halliwell, 2006; Machado-Vieira *et al*., 2007a; Andreazza *et al*., 2007**; **Kunz *et al*., 2008; Siwek *et al*., 2016).** Também, **Machado-Vieira *et al*. (2007a**) e **Gergerlioglu *et al*. (2007),** demostraram que o aumento da atividade da SOD em pacientes maníacos não medicados retornavam aos níveis normais após tratamento com estabilizadores do humor. Estes trabalhos estão em consonância com nossos resultados, onde não observamos nenhuma alteração em qualquer um dos grupos bipolares ou controle em nossos pacientes sendo que todos estavam medicados. No entanto, existem achados conflitantes. **Ranjekar *et al*. (2003)** e **Selek *et al*. (2008)** observaram a diminuição da atividade da SOD nas fases agudas do TB e na eutimia. Também, **Raffa *et al.* (2012),** não encontraram diferenças na atividade da SOD em pacientes quando comparados com controles saudáveis.

Com relação a GSH-Px, conforme já descrito, esta tem uma atividade regular de eliminação de RLs que se formam constantemente no organismo, enquanto a CAT atua em situações agudas, quando há EO celular **(Valko *et al*., 2007).** Estudos mostram uma diminuição significativa da atividade da GSH-Px em pacientes com mania e não tratados. Isso pode ser devido ao consumo da enzima naquele momento, caracterizado por um estado de EO **(Andreazza *et al*., 2009**; **Raffa *et al*., 2012).** Essa diminuição também foi observada em áreas específicas do cérebro como o córtex pré-frontal de pacientes bipolares **(Gawryluk *et al*., 2011).** Contudo, após o tratamento, o resultado não diferiu do grupo controle **(Tsai e Huang, 2015; Sarandol *et al.*, 2015).** Outro ponto importante a salientar é que estudos demonstram que o número de episódios afetivos ao longo da vida foram negativamente correlacionados com a atividade de GSH-Px, **(Mansur *et al*., 2016b)** o que parece indicar haver deterioração do mecanismo antioxidante e acúmulo de carga alostática com a progressão da doença **(Kapczinski *et al*., 2008b).** Entretanto, não observamos em nosso trabalho tal efeito tanto nos pacientes com ≤ 3 anos e ≥ 10 anos de doença os quais não apresentaram diferença em relação aos pacientes controles. Uma possível explicação, seria que em ambos os artigos não descreviam quantos pacientes usavam medicação e quais medicações utilizavam.

Assim, embora nossos resultados corroborem com outros estudos semelhantes e apoiem a hipótese de que o EO é importante no TB, podemos pontuar algumas limitações dos nossos resultados. Apesar do cuidado para evitar ao máximo os vieses de confusão, devemos enfatizar que o pequeno número de participantes em cada subgrupo pode produzir análises que devem ser interpretadas dentro de suas limitações. Além disso, como este não era o objetivo deste trabalho, não consideramos fatores genéticos, dado que depressão e TB estão relacionadas a diferentes polimorfismos genéticos pró-oxidantes e antioxidantes que aumentam a suscetibilidade ao desenvolvimento do TB **(Fullerton *et al*., 2010).** Outro ponto é que nosso

trabalho é uma análise transversal, portanto, não podemos comparar diferentes categorias de tratamento (estabilizadores de humor) e seus possíveis efeitos, embora a literatura demonstre que estes agentes possuam propriedades antioxidantes. Devido a esses resultados discrepantes, essas enzimas ainda não podem ser usadas como biomarcadores do TB, mas podem ser úteis para avaliar os estágios da doença **(Gama *et al*., 2013).**

7.3. Discussão dos resultados dos mediadores relacionados ao metabolismo energético

Quando nos referimos aos mediadores do metabolismo energético, devemos lembrar que a mitocôndria é a principal estrutura celular envolvida. Ela é composta por dois complexos de membranas, separados por um espaço intermembrana, o qual possui inúmeras invaginações que formam as cristas mitocondriais, em que estão presentes as proteínas da CTE, cujo número e morfologia refletem a demanda de energia (**Ding *et al*., 2012**). As mitocôndrias metabolizam carboidratos e ácidos graxos, produzindo energia por intermédio da geração de ATP **(Alberts *et al*., 1994)**. Essa geração de ATP ocorre na matriz mitocondrial, porém as etapas iniciais do metabolismo dos carboidratos acontecem fora da organela, onde a glicose é convertida em piruvato através da glicólise, para então ser transportada para a matriz mitocondrial, onde será convertido em acetil-CoA pela piruvato desidrogenase e servirá como combustível que sustentará o fluxo de carbono do ciclo do ATC, onde então a acetil-CoA será convertida em CO_2 no ciclo do ATC com a produção resultante de NADH e $FADH_2$, sendo estes, os doadores de elétrons para o CTE, o qual é crítico para a geração de ATP mitocondrial e ativação de diversas vias bioquímicas importantes **(Gray *et al*., 2014).** O ciclo do ATC, é formado por uma série de reações químicas em que o dióxido de carbono e duas moléculas, ricas em elétrons, o dinucleotídeo de nicotinamida e adenina (NADH) e o dinucleotídeo de flavina e adenina

($FADH_2$), são produzidos. O NADH e $FADH_2$ são movidos para o interior da membrana mitocondrial onde ocorre a doação de elétrons para a CTE, composta por um complexo de proteínas denominadas como (Complexo I, II, II, IV e V). Para a execução desse processo, o Complexo I e II recebem elétrons do NADH e $FADH_2$, respectivamente (**Enríquez, 2016**). Ambos transferem elétrons para a Coenzima Q10, a qual tem fortes propriedades antioxidantes. Em seguida a Coenzima Q10 transfere os elétrons para o Complexo III, sendo em seguida transportados para o Complexo IV pelo Citocromo C **(Alvarez-Paggi *et al.*, 2017**), onde o Complexo IV, transfere elétrons para o oxigênio molecular formando água (**Enríquez, 2016; Milenkovic*et al.*, 2017**). Desta forma, o hidrogênio é transportado pelo Complexo V, uma ATP sintase, de volta à matriz mitocondrial, para a formação de ATP **[*para maior aprofundamento sobre este tema, ler item Mitocôndria; do artigo 1*].**

Conforme já discutido nos itens anteriores, as ativações inflamatórias podem impactar nas funções mitocondriais, alterando a produção energética a partir de disfunções principalmente no ciclo do ATC e nos Complexos da CTE, alterações estas encontradas em diversas patologias psiquiátricas como o TB. Como exemplo, podemos observar que níveis mais altos de citocinas inflamatórias produzem diminuição da atividade do Complexo I da CTE no cérebro e células periféricas de pacientes bipolares, levando ao aumento da produção de EROs pela mitocôndria **(Kim *et al.*, 2015)**. Outro exemplo foi estudado por **Kim *et al.* (2016),** mostrando que a ativação do sistema inflamatório, através de níveis aumentados de caspase-1, IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-10 e IFN-γ, induz à produção de EROs, provocando alterações mitocondriais na CTE e no ciclo do ATC, as mesmas EROs produzidas através do EO, as quais pioram a função mitocondrial tanto no ciclo do ATC como na cadeia CTE, estimulam a mitocôndria a produzir mais EROs, o que gerará um ciclo crônico que se retroalimenta. Como anteriormente comentado, o aumento do EO neuronal produz efeitos deletérios na transdução

de sinal, plasticidade e resiliência celular que podem induzir disfunções mitocondriais reduzindo a atividade da CTE e do ciclo do ATC **(Olmez e Ozyurt, 2012).** Estas disfunções mitocondriais podem ser medidas no sangue periférico e em cérebros *post mortem* de pacientes com TB **(De Sousa *et al*., 2014b; Valvassori *et al*., 2018).** Em um estudo de revisão **Zuccoli *et al*., (2017)** compilaram 95 proteínas expressas que se encontravam diferencialmente relacionadas ao metabolismo energético no TB em tecido cerebral *post mortem*. Quarenta e oito dessas proteínas eram principalmente relacionadas ao ciclo do ATC e a CTE.

Com relação às proteínas do ciclo do ATC, este é composto por um conjunto de oito enzimas presentes na matriz mitocondrial, sendo a maioria das enzimas codificadas no núcleo em eucariotos superiores **(Cavalcanti *et al*., 2014).** Estas proteínas são fundamentais para a produção de energia mitocondrial e produzem substratos usados na fosforilação oxidativa pela CTE. Assim, inativar qualquer uma delas pode reduzir a geração de energia mitocondrial **(Blass e Brown, 2000; Shi e Tu, 2015; Lazzarino *et al*., 2019).** Desta forma, o ciclo do ATC é crítico para a atividade mitocondrial, pois produz substratos que alimentam a fosforilação oxidativa na CTE mitocondrial, que quando apresentam disfunções mitocondriais, podem desempenhar um papel essencial na fisiopatologia das doenças neuropsiquiátricas. Esta noção é consistente com estudos paralelos de transcriptômica, proteômica e metabolômica, mostrando a expressão diferencial de vários genes relacionados às funções mitocondriais entre pacientes com transtornos mentais e controles saudáveis **(Prabakaran *et al*., 2004).** Apesar de sua importância, poucos estudos avaliaram a atividade das enzimas do ciclo do ATC em pacientes com doenças mentais e mais particularmente em pacientes bipolares. Um destes estudos foi realizado com 18 pacientes com TB durante fase depressiva no início da doença e virgens de tratamento **(De Sousa *et al*., 2015a).** A pesquisa avaliou a atividade das principais enzimas do

ciclo do ATC, citrato sintase, malato desidrogenase e succinato desidrogenase em leucócitos de pacientes com TB. Observou-se que não houve alteração na atividade enzimática no ciclo do ATC em comparação aos controles. Também não houve correlação entre qualquer atividade enzimática do ciclo do ATC e gravidade dos sintomas depressivos no TB de início recente. Desta forma, **De Sousa *et al*., (2014a)** sugeriram, que mesmo que ocorra alterações mitocondriais logo no início da doença, o organismo pode ter mecanismos compensatórios que evitam as alterações do ciclo do ATC no início da doença.

Em nosso estudo encontramos resultados semelhantes, onde não observamos alterações significativas nos níveis das enzimas citrato sintase e succinato desidrogenase em leucócitos de pacientes eutímicos, tanto no grupo de pacientes que iniciaram a doença com ≤ 3 anos, como no grupo com ≥ 10 anos de doença. Desta forma, pudemos observar que mesmo, pacientes com mais tempo da doença, porém mantendo-se em fase eutímica, apresentam valores normais desta enzima. Importante salientar também, que não encontramos na literatura trabalhos em fases mais tardias da doença o que torna este trabalho provavelmente relevante. **[*Ver o item — resultados - tabela 3 do artigo 5 pag 130*].**

Em pesquisa realizada em ratos, por **Feier *et al*., (2013),** utilizando metanfetamina como modelo para indução de mania, estes observaram diminuição nas enzimas do ciclo do ATC (citrato sintase e succinato desidrogenase) e consequentemente dos Complexos I, II, III, IV do CTE; onde após o uso de estabilizadores do humor (lítio e ácido valproico), os valores retornavam à normalidade. Isso reforça a ideia que os pacientes tratados apresentam a reversão da disfunção do metabolismo energético nas enzimas do ciclo do ATC e do CTE, desenvolvendo a hipótese que as enzimas do ciclo do ATC possam estar envolvidas no TB. Em outro trabalho semelhante, **Valvassori *et al*. (2014),** encontraram níveis reduzidos das enzimas

citrato sintase, succinato desidrogenase e malato desidrogenase, no córtex pré-frontal, hipocampo e estriado em ratos tratados com anfetamina. Esses níveis reduzidos foram associados à hiperatividade comportamental, que posteriormente ao serem tratados com tamoxifeno, apresentaram melhora importante dos níveis destas enzimas e do comportamento. Essas descobertas sugerem que a inibição das enzimas do ciclo do ATC pode ser um elo importante para a disfunção mitocondrial observada no TB. Contudo, devemos observar que **Bubber *et al*. (2004),** demonstraram que embora as atividades enzimáticas do ciclo do ATC em cérebros de ratos têm um padrão semelhante ao humano, a maioria das atividades enzimáticas cerebrais destes animais são 2 a 3 vezes maior do que em cérebros humanos. Por outro lado, o mesmo pesquisador demonstrou que as atividades das enzimas do ciclo ATC variaram consideravelmente no cérebro humano na esquizofrenia, onde apresentavam uma atividade reduzida de algumas delas, sugerindo que alterações semelhantes também ocorria em outra patologia psiquiátrica **(Bubber *et al*., 2011).** Em contraste, **Yoshimi *et al.* (2016)**, mostraram que os níveis séricos de piruvato e da α-cetoglutarato em pacientes com TB foram significativamente maiores do que os de controles saudáveis e que estes provavelmente desempenham um papel na patogênese do TB, embora as razões subjacentes sejam desconhecidas. Já os níveis séricos de acetil-CoA e oxalacetato não foram alterados. Além disso, nenhum estudo foi realizado durante os estágios posteriores da doença. O α-cetoglutarato é um metabólito-chave no ciclo do ATC, estando envolvido na metilação do DNA e das histonas, produzindo um impacto epigenético **(Salminen *et al.*, 2014).** Foi sugerido que modificações epigenéticas desempenham um papel importante na patogênese de muitos transtornos psiquiátricos, incluindo no TB **(Labrie *et al.*, 2012; Kato e Iwamoto, 2014).**

Conforme descrito acima, há um acúmulo de evidências que sugerem que a disfunção mitocondrial e o EO estejam correlacionados na patogênese do TB. Entretanto, ainda não está

claro se a disfunção mitocondrial, mais especificamente o comprometimento dos Complexos da CTE, está associada ao aumento do dano oxidativo. Com base nesses achados, a melhora das funções mitocondriais é uma estratégia potencialmente promissora para o tratamento do TB.

No nosso trabalho avaliamos a atividade dos Complexos I e II, os quais demonstraram-se em níveis alterados. Os valores apresentaram um aumento significativo entre os grupos; nos quais foram observados maior atividade do Complexo I em pacientes bipolares eutímicos, tanto no grupo com ≤ 3 anos e mais de ≥ 10 anos de doença, quando comparados ao grupo controle **($p < 0,005$)**. Também com relação ao Complexo II, encontramos um aumento significativo somente em relação ao grupo de ≥ 10 anos de doença, em relação ao grupo controle e de ≤ 3 anos de doença **($p < 0,01$)**. Entretanto, devemos observar que no grupo de ≤ 3 anos de doença no Complexo II, apresentou um aumento da atividade em relação ao grupo controle, porém não foi estatisticamente significativa **[*Ver o item — resultados - Fig1. e Fig 2. do artigo 5 - pag 131*]**. A questão a ser respondida em relação ao aumento da atividade destes dois Complexos seria se este aumento é devido a uma resposta adaptativa da mitocôndria, com aumento da expressão destes Complexos proteicos da CTE mitocondrial, em função de um déficit primário no TB ou seria devido ao uso de medicamentos específicos para o tratamento do TB.

Para respondermos a esta questão, será necessária uma nova pesquisa à frente, incluindo mais um grupo de pacientes bipolares, desta vez não tratados e compará-los com os atuais grupos. Contudo, para discutirmos nossos resultados buscamos algumas respostas na literatura. Nos artigos estudados, apresentavam resultados muito conflitantes, sendo que isso se deve aos diferentes materiais e métodos utilizados, que discutiremos a seguir. Estas diferenças na metodologia são observadas com relação ao tecido utilizado (neurônios *post mortem*; leucócitos, plaquetas ou em cultura de células); a fase da doença (mania, depressão e eutimia);

a área cerebral avaliada (pré-frontal, cerebelo e parietal); utilização ou não de medicação estabilizadora, metodologia para mensuração (através de expressão de genes ou medidas das proteínas da CTE, ou subunidade destas). Todas essas variáveis podem se tornar fatores que possibilitam diferentes resultados.

Todos os Complexos da CTE apresentam várias subunidades, conforme a **Fig.3.** O Complexo I é o mais estudado. Este Complexo é composto por 26 cadeias polipeptídicas, (subunidades) sendo o maior dos Complexos da CTE. Assim, diversos trabalhos demonstraram que os pacientes bipolares em fase maníaca ou depressiva, apresentam níveis menores da atividade do Complexo I. **Ben-Shachar e Karry, (2008)**, avaliaram as subunidades do Complexo I em cerebelos *post mortem* de pacientes bipolares e compararam com pacientes controles. Foram observados diminuição dos níveis das subunidades: NDUFV1 (NADH desidrogenase [ubiquinona] flavoproteína 1); NDUFV2 (NADH desidrogenase [ubiquinona] flavoproteína 2) e NDUFS1 (NADH desidrogenase [ubiquinona] ferro-enxofre proteína 1). Contudo, neste mesmo trabalho quando foram avaliados os níveis de NDUFV1 e NDUFV2 no córtex parieto-ocipital houve aumento da atividade. Esses resultados sugerem que pode haver alterações regionais no cérebro relacionado à disfunção do Complexo mitocondrial em pacientes com TB.

Em outros trabalhos, **Sun *et al.* (2006); Andreazza e*t al*. (2010) e Kim *et al*. (2016),** avaliaram a subunidade NDUFS7 (NADH desidrogenase [ubiquinona] ferro-enxofre proteína 7) do Complexo I, no córtex pré-frontal de pacientes bipolares *post mortem*. Em todos eles foram encontrados níveis reduzidos desta proteína. Outro estudo, realizado por **Andreazza e*t al*. (2013),** também observaram uma diminuição do Complexo I, porém sem alteração do Complexo III, no córtex pré-frontal *post mortem* de pacientes bipolares em mania.

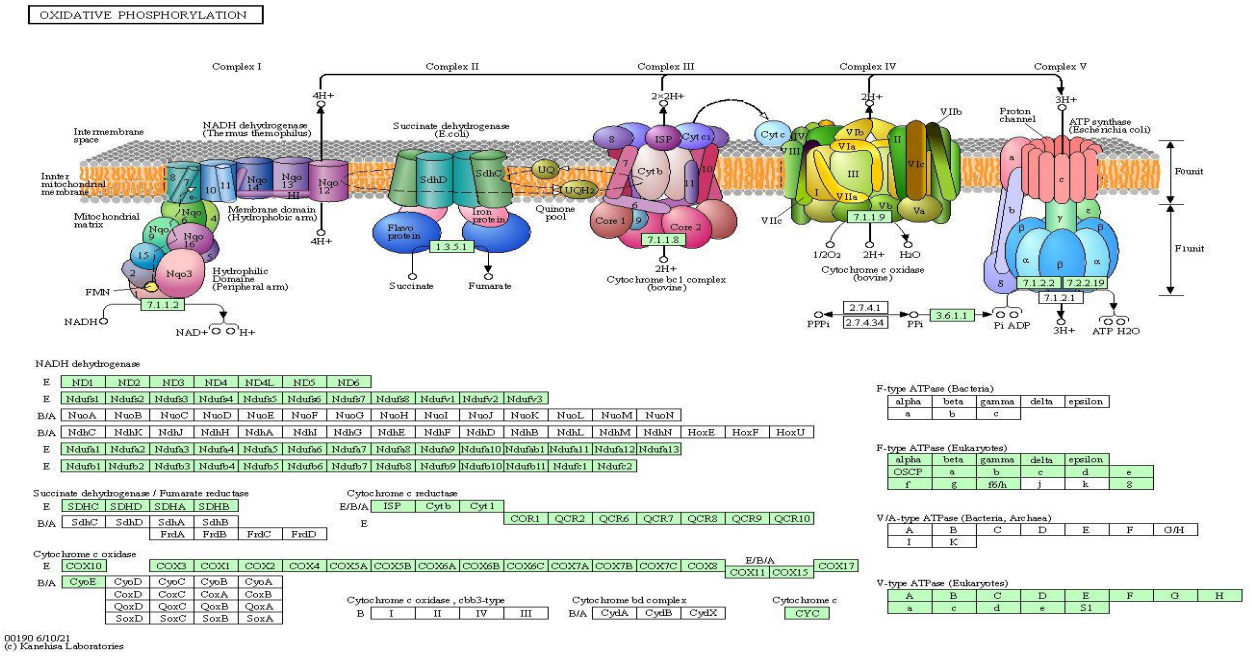


Fig 3. Origem da imagem: Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and enomes. *Nucleic acids research, 28*(1),27-30. This image was obtained with permission from KEGG.

Devemos recordar que os Complexos I e III são os principais responsáveis pela produção aumentada de EROs, em especial o O_2•-, sendo em condições metabólicas normais o Complexo III o principal produtor de RLs **(Orrenius *et al.*, 2007; Koopman *et al.*, 2010; Finkel e Holbrook, 2000; Steckert *et al.*, 2010**). Este aumento do O_2•- pela CTE, pode provocar secundariamente mais disfunções mitocondriais, de maneira a retroalimentar o processo de comprometimento das proteínas da cadeia respiratória, levando à mais disfunção mitocondrial (**Akarsu *et al.*, 2015; Scola *et al.*, 2013)** e por consequência, diminuição da síntese de ATP (**Dudley *et al.*, 2016).** Os mesmos resultados foram encontrados em ratos submetidos a um modelo experimental de depressão, os quais apresentaram função mitocondrial prejudicada nos Complexos I e IV do córtex cerebral e cerebelo **(Rezin *et al.*, 2008).**

Em outras pesquisas utilizando a técnica de microarrays, foi possível avaliar a expressão genética em diferentes tecidos. **Beech *et al.* (2010),** descreveram o aumento da expressão de 22 genes, e a diminuição de 2 genes, que compõem os múltiplos componentes da CTE no sangue

periférico de indivíduos deprimidos com TB não tratados e tratados com lítio. Em outro estudo, com células mononucleares de pacientes com TB em fase depressiva, comparados com pacientes eutímicos medicados, também foi observado uma regulação positiva de *NDUFV2* **(Munkholm *et al*., 2015). Por outro lado**, **Washizuka *et al*. (2005),** relataram diminuição na expressão da maioria dos genes da subunidade do Complexo I (inclusive *NDUFV2*) medido em leucócitos de pacientes bipolares em tratamento com estabilizadores de humor, quando comparados com indivíduos controles. **Diaz e Moraes, (2008),** descobriram que indivíduos deprimidos com TB tinham níveis elevados de ARN mensageiro para vários dos genes nos Complexos I, III, IV e V da CTE. Desta forma, o aumento da expressão desses genes sugere que pode haver aumento da renovação mitocondrial em indivíduos deprimidos com TB. Também **De Sousa *et al*. (2014b)**, não encontraram alterações no número de cópias no DNA mitocondrial, que codifica proteínas relacionadas a atividade da CTE em leucócitos de pacientes em depressão bipolar, não tratados, comparados com pacientes saudáveis. Mesmo após tratamento de 6 semanas com lítio o número de cópia do DNA mitocondrial se manteve inalterado.

Contudo, diversas pesquisas utilizaram amostras de sangue periférico para avaliar o metabolismo energético e alterações da CTE. Em uma delas, **Akarsu *et al*. (2015**), estudou 32 pacientes com TB em fase maníaca, não tratados, comparados a um grupo controle saudável. Os autores observaram uma regulação positiva de subunidades do Complexo I para os seguintes genes (*NDUFV1*, *NDUFV2* e *NDUFS1*), e o nível de ARN mensageiro do gene *UQCR10* (Complexo III) não apresentou diferença.

Em contrapartida, em outro estudo, **Gubert *et al.* (2013)**, avaliaram 12 pacientes bipolares em eutimia todos em tratamento, comparados com 30 voluntários saudáveis. Foi observado diminuição significativa na atividade do Complexo I em células mononucleares do

sangue periférico. Nenhuma diferença significativa foi encontrada na atividade do Complexo I em pacientes com TB. Os dados do trabalho de **Gubert *et al*. (2013**), diferem dos nossos resultados onde foram encontrados aumentos dos Complexos I e II nos pacientes eutímicos tratados com estabilizadores do humor. Contudo, os resultados de **De Souza *et al.* (2015a),** após avaliar o Complexo I em sangue periférico utilizando leucócitos de pacientes com TB em fase depressiva, relatou uma diminuição da atividade do Complexo I, mas que após tratamento com lítio apresentaram aumento da atividade do Complexo I da CTE, sem alterações em outros complexos, estando estes resultados em linha com os nossos resultados. Dados semelhantes ao nosso, foi observado por **Sun *et al*. (2006),** onde a expressão do gen (*NDUFS7*) da subunidade do Complexo I se encontrava aumentada em córtex pré-frontal de pacientes tratados com lítio comparado a pacientes sem tratamento com lítio. Ao correlacionar o nível de lítio no plasma observaram uma correlação positiva com os níveis da atividade do Complexo mitocondrial I após o tratamento.

Finalmente em um trabalho semelhante ao nosso, **Valvassori *et al*. (2018),** encontraram resultados que refletem muito daqueles encontrados por nosso grupo. Ao analisarem os níveis de atividade do Complexo mitocondrial (I, II, II-III e IV) em sangue periférico utilizando linfócitos de 51 pacientes com TB, sendo 34 eutímicos e 37 na fase depressiva, os pesquisadores observaram que durante a fase depressiva, poderia ocorrer o aumento dos níveis de O_2•- mitocondrial, carbonil, TBA-RS e SOD, podendo assim diminuir os níveis de atividade do Complexo II mitocondrial, produzindo uma correlação negativa entre a escala HAM-D 17 e atividade do Complexo II nos linfócitos, uma correlação positiva entre a escala HAM-D 17 e TBA-RS e uma correlação negativa entre a atividade do Complexo II e os parâmetros de EO como, por exemplo, representado pela SOD. A diminuição do Complexo II também foi relatada em linfócitos de pacientes bipolares em fase depressiva, em comparação com pacientes

eutímicos. Isso reforça a ideia de que o paciente eutímico apresenta uma melhora do funcionamento das proteínas da CTE, pelo menos no que se refere ao Complexo I e II, conforme observado pelo nosso grupo. Isso possivelmente se deve ao efeito dos estabilizadores do humor sobre da CTE ou a diminuição do EO, conforme observamos nos resultados anteriormente descritos. **Valvassori *et al*. (2018),** também observaram que existe uma correlação negativa entre a intensidade da depressão e a atividade do Complexo II nos linfócitos de pacientes bipolares em depressão, assim como uma correlação positiva entre a depressão e os níveis de SOD, TBA-RS e proteínas carboniladas. Desta forma pode-se observar que os parâmetros de EO mitocondrial e da atividade do Complexo II desempenham papéis importantes no TB. No nosso trabalho também observamos uma estabilização da SOD nos dois grupos de pacientes bipolares tratados, apresentando valores semelhantes ao dos pacientes controle saudáveis, porém como observamos na secção anterior os níveis de TBA-RS se mantiveram altos nos dois grupos de pacientes ($\leq$ 3 anos e $\geq$ 10 anos de doença) em relação ao grupo controle, mesmo após 6 meses de Eutimia. Desta forma, nossa pesquisa apresenta resultados que podem complementar e reforçar os resultados dos trabalhos de **De Souza *et al.* (2015a)** e **Valvassori *et al.* (2018),** ao incluir um grupo controle saudável e pacientes eutímicos todos tratados.

Em relação a novos estudos, **Zvěřová *et al*. (2019) e Hroudová *et al*. (2019)**, utilizaram para avaliar os Complexos da CTE, plaquetas no sangue periférico de pacientes bipolares. No primeiro estudo utilizaram 24 pacientes em fase depressiva e compararam com controles saudáveis. Na segunda pesquisa utilizaram pacientes bipolares em episódio maníaco e pacientes em remissão e compararam com pacientes controles normais. A quase totalidade dos pacientes estavam utilizando medicamentos. No primeiro estudo foi observado um aumento significativo do Complexo I, porém uma diminuição da citrato sintase, Complexo II e Complexo IV nos pacientes bipolares comparados ao controle saudável. No segundo estudo as atividades da

citrato sintase e dos Complexos I, II e IV da CTE foram examinadas. As atividades da citrato sintase, Complexo II e Complexo IV foram diminuídas nos pacientes com TB e a atividade do Complexo I foi aumentada sendo que a relação entre o complexo I e a citrato sintase foi significativamente aumentada, corroborando com achados de **Zvěřová *et al*. (2019)**. Sendo assim, curiosamente os achados foram semelhantes em pacientes em fase deprimida e maníaca no TB. Os dois estudos sugerem que o aumento da atividade do Complexo I pode ser um mecanismo compensatório em resposta a distúrbios no sistema de fosforilação oxidativa, por exemplo, a diminuição das atividades do Complexo II e do Complexo IV. Conforme já anteriormente descrito, nossa pesquisa observou resultado semelhante com aumento do Complexo I tanto nos grupos (≤ 3 anos e ≥ 10 anos de doença), porém em relação aos pacientes do Complexo II só observamos aumento no grupo de pacientes com ≥ 10 anos de doença. Estes estudos demonstram de forma consistente que o uso da medicação parece produzir uma melhora do funcionamento das proteínas da CTE reforçando a hipótese, de diversos autores. **Iwamoto *et al.* (2005),** descobriram que cada um dos grupos de medicamentos utilizados para o tratamento do TB (lítio, ácido valproico e antipsicóticos) parecem afetar o processo repressivo global de forma significativa na expressão de genes relacionados à mitocôndria. Estudos em cultura de células e modelos animais também mostraram que o tratamento crônico com lítio ou ácido valproico pode aumentar a função mitocondrial e proteger contra a toxicidade mediada pela mitocôndria **(Bachmann *et al.*, 2009).** O lítio também demonstrou aumentar a atividade dos Complexos I - III em extratos de tecido cerebral *post mortem* em humano em concentrações terapeuticamente relevantes **(Maurer *et al.*, 2009).**

Desta forma, podemos observar que existem resultados muito díspares entre os diferentes artigos, onde os estudos anteriores, baseados em amostras cerebrais *post mortem*, diferem quanto aos achados baseados em amostras de sangue isoladas de indivíduos vivos com

TB. Também pode haver diferenças significativas com relação aos estudos utilizando a expressão gênica onde os genes da CTE apresentam regulação positiva no sangue, mas regulados negativamente em algumas regiões do SNC de pacientes com TB. Quanto as dosagens de proteínas da CTE em leucócitos, essas parecem apresentar resultados mais consistentes de forma a apresentarem menor variação, demonstrando que geralmente as proteínas dos complexos ou suas subunidades, em especial a dos CI e CII parecem apresentar suas atividades diminuídas durante as fases maníacas e depressivas da doença, porém apresentam melhora após retornarem a eutimia devido ao uso de estabilizadores.

Para finalizar, as alterações mitocondriais para além das diferenças nas expressões dos Complexos da CTE, também apresentam alterações nas estruturas morfológicas das mitocôndrias, o que pode acabar afetando também o metabolismo energético devido à inibição da CTE e subsequente depleção do ATP. Importante salientar que, essas alterações na biogênese mitocondrial parecem apoiar que o distúrbio mitocondrial é um evento precoce na fisiopatologia do TB (**Marques e*t al*., 2021**).

Assim, mais estudos serão necessários para esclarecer mais precisamente as relações entre diagnóstico, estado de humor, estado de tratamento, expressão das proteínas do Complexo da CTE e as alterações morfológicas mitocondriais no TB.

7.4. Discussão final.

Segundo a literatura, os biomarcadores periféricos relacionados às vias da inflamação, EO, neurotrofinas e metabolismo energético encontram-se alterados no TB, especialmente durante os episódios agudos de humor (**Andreazza *et al*., 2010**; **Brietzke *et al*., 2009a).** Já durante a eutimia, observa-se uma maior estabilização e normalização desses mediadores. Nossos dados reforçaram estudos anteriores, nos quais mediadores inflamatórios como as interleucinas e o

TNF-α, assim como as defesas enzimáticas antioxidantes e enzimas do ciclo do ATC, apresentaram-se normais. As alterações observadas no nosso trabalho, nos pacientes em eutimia foram a atividade da CAT e a lipo peroxidação (TBA-RS), conjuntamente com as neurotrofinas em particular o BDNF e as proteínas dos Complexos I e II da CTE; as quais todas elas se apresentaram em níveis aumentados. O aumento do BDNF e dos Complexos I e II, refletem uma melhora na recuperação das células cerebrais e da sua bioquímica, traduzindo-se por uma melhora na capacidade de formação dendrítica e no aumento da viabilidade das células neuronais e gliais. Contudo, a manutenção de níveis aumentados de TBA-RS e da atividade da CAT demonstram que a despeito da melhora de muitos marcadores inflamatórios durante a eutimia, esta não é total. O aumento destes marcadores de forma significativa, parece refletir que a neuroinflamação persiste apesar dos efeitos benéficos dos medicamentos estabilizadores.

Estudos demonstraram que estas medicações interferem no EO proporcionando efeitos antioxidantes protetores, e produzindo aumento da função mitocondrial refletindo na melhora sintomatológica de pacientes bipolares. Tanto o lítio como o ácido valproico, aumentaram diretamente a atividade do Complexo I da CTE mitocondrial e ambas as substâncias parecem induzir a fosforilação dos Complexos II, III e V, aumentando a produção energética **(Sun *et al.*, 2006; Corena-McLeod *et al.*, 2013).** Isto sugere, em última instância, que a toxicidade sistêmica presente nas fases da mania e da depressão, quando controlada, pode melhorar as condições destas células, reforçando a ideia que as diversas modalidades de tratamentos podem levar o paciente a uma melhor qualidade de vida. Ante essa interpretação, o objetivo do tratamento deixa de ser apenas a remissão dos sintomas clínicos e passa a ser a evitação às recaídas e com isso auxiliar na manutenção da capacidade cognitiva e funcional ao longo do tempo. Esta conclusão se torna um dos pontos centrais neste estudo, pois independentemente da abordagem utilizada durante o tratamento (farmacológica, psicoterapia e psicoeducação)

torna-se premente a necessidade de um diagnóstico e intervenção cada vez mais precoce de maneira que, as diversas formas de terapias possam ter um efeito neuroprotetor, gerando uma atenuação dos sintomas clínicos. Vários estudos observam, que as pessoas com transtorno mental, normalmente só procuram tratamento muito tempo após surgirem os primeiros sinais da doença. Podem passar anos até um especialista fazer o diagnóstico correto, e receitar os medicamentos adequados. No caso do TB, o período decorrido entre a primeira manifestação do problema, e início do tratamento varia de 5 a 10 anos, tempo suficiente para surgirem complicações no trabalho, na convivência social e com a família, além da perda parcial da sua autonomia, conforme pudemos observar na nossa pesquisa, onde os resultados dos testes FAST e FAB demonstraram alterações cognitivas e funcionais significativas desde o início da doença (pacientes com ≤ 3 anos de doença) (**Chen *et al*., 1998**; **Scott e Leboyer, 2011**; **Hirschfeld, 2014; Fritz *et al*., 2017; O'Donovan e Alda, 2020).** Assim, o uso precoce de medicações para o tratamento, apesar dos efeitos colaterais dos mesmos, seria benéfico na evolução clínica do paciente. Na nossa amostra, observamos que todos os pacientes recorriam a medicamentos das mais diversas categorias — carbonato de lítio, antidepressivos, antipsicóticos e anticonvulsivantes — usados sozinhos ou em combinação. Sabemos que, em geral, eles são eficazes em 80% dos casos no TB e na depressão e, comprovadamente produzem efeito neuroprotetor **(Carlson *et al*., 2012; Geddes e Miklowitz, 2013). Contudo**, em um estudo com pacientes bipolares verificou-se que 40% destes pacientes, em especial aqueles com quadros mais graves, só conseguiam manter a doença sob controle tomando três ou mais medicamentos, e que, em geral, essas doenças atingem um estágio muito mais difícil de ser controlado após a décima crise, onde os surtos ganham autonomia e podem se tornar independentes das condições estressantes que antes os disparavam (processo esse chamado kindling), que costuma ocorrer por volta de 10 anos após as primeiras manifestações da doença. Entretanto, é importante

salientar que mesmo o lítio, considerado o medicamento padrão ouro e o mais utilizado para o tratamento no TB, perde sua eficácia após o décimo surto **(Swann *et al*., 1999**; **Goodwin, 2002; López-Jaramillo *et al*., 2010; Ferensztajn-Rochowiak *et al*., 2020).** Portanto, estas evidências reafirmam que o controle da enfermidade logo após os primeiros episódios de depressão ou de euforia preserva a capacidade de recuperação do organismo, impedindo a degradação cognitiva e funcional.

Outro ponto a ser observado, está ligado aos fatores desencadeantes do TB. A partir dos dados levantados nesta pesquisa observamos que além do componente genético envolvido na patogênese do TB, fatores não genéticos, como o estresse psicossocial, podem desencadear o desenvolvimento de transtornos de humor, disparando os primeiros episódios de mania ou de depressão. O eixo hipotálamo pituitária adrenal (HPA) é o mediador primário da resposta biológica ao estresse. Anormalidades neste sistema foram associadas ao curso clínico do TB, e podem contribuir para o aumento do risco de recaída clínica após um evento psicossocialmente estressante, embora os mecanismos subjacentes envolvidos nessas associações permaneçam essencialmente desconhecidos **(Gershon *et al*., 2013; Daban *et al*., 2005; Weiss *et al*., 2015).** No TB, acredita-se que o feedback negativo do cortisol para os componentes do hipotálamo e da hipófise esteja prejudicado, levando à ativação contínua do eixo HPA, e consequentemente a uma liberação excessiva do hormônio adrenocorticotrófico e do hormônio cortisol. As alterações descritas na atividade do eixo HPA variam conforme a fase clínica do TB. Embora o eixo HPA hiperativo pareça mais proeminente durante a fase maníaca, ele pode persistir durante a remissão clínica porque pacientes eutímicos com TB também apresentam níveis mais elevados de cortisol **(Murri *et al*., 2016; Lacroix, 2019).** Esta descoberta em particular, torna-se fundamental para a partir dela podermos hipotetizar que o grande aumento de TBA-RS que encontramos nos pacientes bipolares em nosso estudo, a despeito de se encontrarem eutímicos,

pode ser explicado através desta manutenção de níveis aumentados do cortisol de forma crônica. Assim, a partir desta observação, onde situações estressantes crônicas obrigam o organismo a fazer ajustes para recuperar a estabilidade perdida, fez com que **McEwen, (2000),** desenvolvesse a hipótese chamada alostase. Este conceito se traduz por uma mudança necessária para restabelecer o equilíbrio (homeostase), descrevendo que ao longo do tempo essa adaptação causava o desgaste do organismo. Assim, esta hipótese parece explicar melhor o agravamento dos distúrbios psiquiátricos marcados por crises sucessivas, como na depressão e no TB (**Ganzel *et al*., 2010; Rios, 2014**)**.** Também pacientes bipolares, particularmente em um estágio avançado da doença, apresentaram aumento dos níveis de cortisol seguido por redução da responsividade do receptor de cortisol por dessensibilização levando ao aumento da atividade de mediadores imunes pró-inflamatórios e à regulação negativa de fatores neurotróficos, como o BDNF **(Fries *et al*., 2014).** Esses mesmos autores sugerem que, à medida que o TB progride, há diminuição da resiliência ao estresse e maior risco de novos episódios de humor, dado que a resiliência ao estresse e os mecanismos de enfrentamento são mediados principalmente pelo eixo HPA. Altos níveis de cortisol também podem estar envolvidos no mecanismo de recorrência aumentada de TB em estágio tardio, fazendo com que, a hiperatividade do eixo HPA possa ter valor prognóstico no TB.

Desta forma, esta perpetuação do estresse crônico, refletido através do aumento do TBA-RS, observado em nosso trabalho, nos permite teorizar que o aumento da CAT nas células é um fenômeno compensatório super reagente para combater o aumento de H_2O_2, estando este relacionado a uma cronicidade da doença. Conforme já explicado, o aumento da CAT que atua no citoplasma e não na mitocôndria, busca neutralizar este aumento do H_2O_2, embora este aumento da CAT não seja suficiente para neutralizar todo o H_2O_2 produzido. Desta forma o excesso de H_2O_2 não neutralizado irá reagir com Fe^{++} gerando o radical $HO^{\bullet}$, sendo este o mais

lesivo de todos os RLs, em especial sobre as membranas da célula.

Torna-se então crucial, a manutenção destes pacientes em eutimia, onde os sintomas clínicos se mantêm razoavelmente estáveis, buscando-se assim um menor número possível de novos episódios maníacos e depressivos, já que a cada novo gatilho psicossocial produziria uma menor importância à medida que a doença avança e os surtos se tornam cada vez mais frequentes e prolongados ficando o intervalo entre eles menores; mesmo com o uso de medicamentos **(Jansen *et al*., 2013**; **Vasconcelos-Moreno *et al*., 2017; Lacroix, 2019).**

Todavia, dois estudos longitudinais mostraram que grande parte dos pacientes mesmo em eutimia, apresentam importante prejuízo em algumas das áreas da funcionalidade e da cognição, e sua recuperação ao contrário do que se imaginava inicialmente, é parcial. Apesar da maioria dos pacientes apresentarem recuperação em relação à sintomatologia clínica, as taxas de recuperação funcional oscilam entre 30% e 40%; **(Tohen *et al*., 2000; Strakowski *et al*., 2000).** Incapacidade para executar as atividades diárias, falhas cognitivas, incapacidade para trabalhar, dificuldades nos relacionamentos inter-pessoais e dificuldades em divertir-se, são os principais problemas apresentados por estes pacientes **(Vieta *et al*., 2007**; **Martínez-Àran *et al*., 2007**). Diversas destas alterações funcionais e cognitivas frontais, foram observadas em nossos resultados a partir dos testes FAST e FAB **[*ver resultados no artigo 3*]**.

Assim, a presença deste aumento de TBA-RS nos remete as alterações nas membranas celulares cerebrais com as alterações dendríticas e sinápticas produzidas a partir de danos celulares, tais como disfunções mitocondriais que afetam a CTE alterando a produção de energia, formação aumentada de EROs, dano ao DNA mitocondrial, permeabilidade da membrana, e desequilíbrio do cálcio. Essas alterações podem levar ao aumento da apoptose e ativação do inflamassoma. No entanto, essa relação pode ser bidirecional, em que a disfunção mitocondrial pode aumentar os fatores inflamatórios como IL-1, IL-6 e TNF-α, e a inflamação

pode induzir a produção de EROs e disfunção mitocondrial.

Além disso, mediadores inflamatórios e mecanismos de estresse ativam o aumento da secreção de cortisol pela adrenal, retroalimentando o mecanismo patológico. Essas alterações podem iniciar um ciclo vicioso em que vários sistemas e mecanismos exacerbam e aceleram o dano celular, a disfunção sináptica e a neurogênese prejudicada, resultando em mudanças cerebrais estruturais progressivas, produzindo um prejuízo nas funções cognitivas frontais em especial nas chamadas FE, conforme **[*ver tabela 10 do artigo 3*],** onde podemos observar o impacto nas diversas áreas e sua correlação com as funções cerebrais. Todas essas alterações parecem contribuir para a neuroprogressão do TB.

Desta forma, a hipótese da neuroprogressão das doenças mentais representa um avanço em relação às hipóteses anteriores. A teoria mais aceita até o momento considerava que as patologias mentais resultariam da interação entre as condições ambientais e sociais, em que o indivíduo vive, e sua propensão a desenvolver o problema, determinado por suas características genéticas. Essa teoria começou a ser construída, a partir dos resultados de diversas pesquisas que acompanharam 1.037 crianças dos 3 anos até os 26 anos **(Caspi *et al.*, 1996).** Eles observaram que certas alterações em genes responsáveis pela produção de neurotransmissores no cérebro aumentavam o risco de uma pessoa desenvolver sintomas comportamentais alterados ou mal-adaptados. A hipótese da neuroprogressão incluiu um terceiro elemento, os danos às células do cérebro e de outros órgãos, causados pelos surtos da própria doença psiquiátrica. Esses surtos em geral se iniciam como uma resposta do organismo a um evento estressante, que pode ser intenso e breve, como um acidente ou um assalto, ou mais ameno e duradouro, a exemplo daqueles que trabalham muito tempo sob tensão. Desta forma, em cada episódio leve ou intenso de estresse, provocado por um perigo real ou imaginário, o organismo reage liberando o hormônio cortisol na corrente sanguínea **(Ulrich-Lai and Herman, 2009;**

Vieta *et al.*, 2013; Hall *et al.*, 2015; Jayasinghe *et al.*, 2016), que quando em pequenas quantidades e por pouco tempo, aumenta os batimentos cardíacos, eleva a pressão arterial e acelera a produção de energia, preparando o corpo para respostas de luta ou fuga. Porém, em doses altas e por períodos prolongados como pode acontecer antes das crises, o cortisol começa a lesar os órgãos, entre eles o cérebro **(Berk *et al.*, 2013; Rabasa *et al.*, 2015**). Contudo, a maioria das células parece sobreviver a essas alterações químicas, ainda que com danos. Imagens do cérebro em funcionamento e exames de microscopia do tecido cerebral *post mortem* indicam que, nas crises de mania ou de depressão, algumas regiões perdem cerca de 10% dos neurônios quando comparados com células cerebrais em condições normais. Porém, esse nível de perda não é suficiente para classificar o TB como doença neurodegenerativa. Tanto no TB como na depressão o problema maior é que os neurônios que sobrevivem não permanecem íntegros demonstrando que, apesar de sutis, essas transformações seriam suficientes para causar uma reorganização patológica do cérebro com perda da conectividade neuronal através da diminuição dos dendritos, os quais comprometem a neurotransmissão e o funcionamento das regiões cerebrais mais afetadas nos distúrbios do humor. Estas transformações anatômicas do cérebro no TB, caracterizam-se por uma redução do volume do córtex pré-frontal e dos ventrículos **(Rajkowska *et al.*, 2018)**. O córtex pré-frontal é responsável pela estruturação do raciocínio, pela tomada de decisões e pelo controle do comportamento. Essas alterações morfológicas permitem explicar por que, com o avanço da doença, quem tem TB perde progressivamente a capacidade de planejamento e aprendizado. Isso foi bem observado no nosso trabalho a partir dos resultados do teste FAB para avaliar as FE do córtex pré-frontal. O impacto final destas alterações bioquímicas e morfológicas neuronais é a perda da funcionalidade destes pacientes, em especial no trabalho e nas relações interpessoais, como ficou evidente no resultado do teste FAST. Desta forma, o conceito de neuroprogressão explica

bem os sintomas clínicos, mas ainda assim não é possível saber se toda essa alteração é causa ou consequência da doença, contudo nos parece prudente que do ponto de vista clínico, devemos pensar em iniciar o tratamento o mais cedo possível e mantê-lo por um período prolongado. Provas mais consistentes exigirão o acompanhamento de pacientes por vários anos, com a realização de exames laboratoriais, de imagem e testes neuropsicológicos de tempos em tempos, para avaliar a evolução do problema. Ainda que esteja longe de ser comprovada, essa proposta está abrindo caminhos para a busca de terapias mais específicas e eficientes, e para o desenvolvimento de estratégias que permitam identificar precocemente as pessoas com risco de desenvolver esses problemas.

8. CONCLUSÕES

- As conclusões que podemos depreender desta tese é que os resultados levantados e analisados até o momento reforçam a hipótese da neuroprogressão e neuroinflamação desenvolvida e descrita por diversos pesquisadores, especialmente durante os episódios agudos de humor. Em conjunto, estas alterações têm sido associadas a uma toxicidade sistêmica da doença e aos prejuízos decorrentes de múltiplos episódios.
- A recorrência de episódios de humor no TB geralmente produz desfechos piores; produzindo, deficiências funcionais e cognitivas, e diminuição da capacidade de resposta ao tratamento.
- Nossos resultados se mostraram em linha com a literatura, sugerindo que diversos biomarcadores periféricos relacionados às vias de inflamação, EO, e metabolismo energético apresentavam uma maior estabilização e normalização destes, durante a fase de eutimia; exceto a CAT e o TBA-RS.
- O estado pró-inflamatório presentes nas fases da mania e depressão parecem se estabilizar durante a eutimia em parte devido ao uso de estabilizadores do humor.

- Entre as neurotrofinas, evidências consistentes sugerem um possível papel do BDNF na fisiopatologia do TB onde os níveis do mesmo são reduzidos durante episódios maníacos e de depressão, e o uso de estabilizadores do humor consegue aumentar os níveis de neuroproteção durante a eutimia.
- Com relação aos fatores neurotróficos, podemos observar uma melhora dos valores nos pacientes eutímicos, principalmente em relação ao BDNF. Isso reforça estudos anteriores em que a estabilidade do humor durante a eutimia produz uma melhora na capacidade de formação dendrítica e na viabilidade das células neuronais e gliais. Isto sugere, em última instância, que a toxicidade sistêmica quando controlada pode melhorar as condições destas células, reforçando a ideia que o uso da medicação apresenta para o paciente uma melhor qualidade de vida.
- Vários estudos demonstraram alterações sistêmicas em diversos parâmetros de EO em pacientes durante mania ou depressão; contudo, o aumento da peroxidação lipídica e da CAT durante na fase eutímica permite hipotetizar que mesmo clinicamente, estáveis e medicados a neuroinflamação continua presente e a doença continua progredindo.
- Os Complexos I e II apresentaram resposta ao uso de estabilizadores do humor durante a eutimia com aumento de atividade.
- Com isso, pacientes com TB também parecem apresentar uma resposta disfuncional ao estresse, deixando de estimular uma resposta adequada ou suficiente para manter a homeostase em situações de estresse.
- A disfunção neuronal e glial e a ativação de um processo pró-inflamatório pela liberação de padrões moleculares associados ao dano, bem como a interrupção das interações mitocondriais, podem ser responsáveis por alterações metabólicas e toxicidade periférica no TB.

- À luz destes conhecimentos novos, terapias podem ser propostas para um melhor manejo dos episódios agudos de humor e para prevenir sua recorrência. Isso pode incluir terapias adjuvantes com agentes antioxidantes, anti-inflamatórios e neuroprotetores.
- Através de um conjunto de biomarcadores periféricos pode-se aumentar e facilitar a compreensão do dano corporal e cerebral associado a episódios recorrentes de humor e de como isso afeta o controle da doença.
- A recuperação sindrômica é uma medida categórica que se refere à resolução de uma constelação específica de sintomas a ponto de os critérios diagnósticos não serem mais atendidos, enquanto a recuperação sintomática é uma medida dimensional que se refere à melhora na magnitude dos sintomas.
- A toxicidade sistêmica relacionada aos episódios recorrentes de humor podem influenciar nas alterações anatômicas e neuro funcionais das células cerebrais levando a neuroprogressão do TB, com alterações na funcionalidade do paciente bipolar.
- A recuperação funcional refere-se ao retorno aos níveis anteriores de trabalho e função psicossocial. Essas distinções são importantes porque separar esses aspectos da recuperação pode ajudar a esclarecer os fatores que contribuem diferencialmente para o processo de recuperação.

PARTE V

Referências - anexos

9. REFERÊNCIAS

Abdalla, D. S., Monteiro, H. P., Oliveira, J. A., & Bechara, E. J. (1986). Activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in schizophrenic and manic-depressive patients. *Clinical Chemistry*, *32*(5), 805-807. https://doi.org/10.1093/clinchem/32.5.805

Abé, C., Ekman, C. J., Sellgren, C., Petrovic, P., Ingvar, M., & Landén, M. (2015). Manic episodes are related to changes in frontal cortex: a longitudinal neuroimaging study of bipolar disorder 1. *Brain*, *138*(11), 3440-3448 https://doi.org/10.1093/brain/awv266

Ademowo, O. S., Dias, H., Burton, D., and Griffiths, H. R. (2017). Lipid (per) oxidation in mitochondria: an emerging target in the ageing process? *Biogerontology* 18, 859–879. https://doi:10.1007/s10522-017-9710-z

Adler, C. M., Holland, S. K., Schmithorst, V., Wilke, M., Weiss, K. L., Pan, H., & Strakowski, S. M. (2004). Abnormal frontal white matter tracts in bipolar disorder: a diffusion tensor imaging study. *Bipolar disorders*, *6*(3), 197-203. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2004.00108.x

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, *105*, 121-126. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3

Airaksinen, M. S., & Saarma, M. (2002). The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. *Nature Reviews Neuroscience*, *3*(5), 383-394. https://doi.org/10.1038/nrn812

Akarsu, S., Torun, D., Erdem, M., Kozan, S., Akar, H., & Uzun, O. (2015). Mitochondrial complex I and III mRNA levels in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, 184, 160-163. https://DOI10.1016/j.jad.2015.05.060

Alp, P. R., Newsholme, E. A., & Zammit, V. A. (1976). Activities of citrate synthase and NAD+-linked and NADP+-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. *Biochemical Journal*, *154*(3), 689-700. https://doi.org/10.1042/bj1540689

Alvarez-Paggi, D., Hannibal, L., Castro, M. A., Oviedo-Rouco, S., Demicheli, V., Tórtora, V., ... & Murgida, D. H. (2017). Multifunctional cytochrome c: learning new tricks from an old dog. *Chemical reviews*, *117*(21), 13382-13460. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00257

Anderson, G., & Maes, M. (2015). Bipolar disorder: role of immune-inflammatory cytokines, oxidative and nitrosative stress and tryptophan catabolites. *Current psychiatry reports*, *17*(2), 8. https://doi.org/10.1007/s11920-014-0541-1

Andreazza, A. C., Cassini, C., Rosa, A. R., Leite, M. C., de Almeida, L. M., Cunha, A. B., ... & Gonçalves, C. A. (2007). Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *Journal of psychiatric research*, *41*(6), 523-529. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.07.013

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. *Journal of affective disorders*, *111*(2-3), 135-144. https://doi.org/10.1016/j.jad.2008.04.013

Andreazza, A. C., Kapczinski, F., Kauer-Sant'Anna, M., Walz, J. C., Bond, D. J., Gonçalves, C. A., ... & Yatham, L. N. (2009). 3-Nitrotyrosine and glutathione antioxidant system in patients in the early and late stages of bipolar disorder. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*, *34*(4), 263. http://jpn.ca/wpcontent/uploads/2014/04/34-4-263.pdf.

Andreazza, A. C., Shao, L., Wang, J. F., and Young, L. T. (2010). Mitochondrial complex I activity and oxidative damage to mitochondrial proteins in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder. *Arch. Gen. Psychiatry* 67,360–368. https://doi:10.1001/archgenpsychiatry.2010.22

Andreazza, A. C., Wang, J. F., Salmasi, F., Shao, L., & Young, L. T. (2013). Specific subcellular changes in oxidative stress in prefrontal cortex from patients with bipolar disorder. *Journal of Neurochemistry*, 127(4), 552-561. https://DOI10.1111/jnc.12316

APA - American Psychiatric Association. (2002). *Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder (revision)*. American Psychiatric Pub. PMID:11958165

Arnsten, A. F., & Rubia, K. (2012). Neurobiological circuits regulating attention, cognitive control, motivation, and emotion: disruptions in neurodevelopmental psychiatric disorders. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *51*(4), 356-367. https://doi.org/10.1016/j.jaac.2012.01.008

Aydemir, Ö., Çubukçuoğlu, Z., Erdin, S., Taş, C., Onur, E., & Berk, M. (2014). Oxidative stress markers, cognitive functions, and psychosocial functioning in bipolar disorder: an empirical cross-sectional study. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *36*, 293-297. https://doi.org/10.1590/1516-4446-2013-1299

Bachmann, R. F., Wang, Y., Yuan, P., Zhou, R., Li, X., Alesci, S., ... & Manji, H. K. (2009). Common effects of lithium and valproate on mitochondrial functions: protection against methamphetamine-induced mitochondrial damage. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *12*(6),805-822. https://doi.org/10.1017/S1461145708009802

Baez, S., Ibanez, A., Gleichgerrcht, E., Perez, A., Roca, M., Manes, F., & Torralva, T. (2014). The utility of IFS (INECO Frontal Screening) for the detection of executive dysfunction in adults with bipolar disorder and ADHD. *Psychiatry research*, *216*(2), 269-276. https://doi.org/10.1016/j.psychres.2014.01.020

Banasr, M., & Duman, R. S. (2008). Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biological psychiatry*, *64*(10), 863-870. https://doi:10.1016/j.biopsych.2008.06.008

Banerjee, U., Dasgupta, A., Rout, JK, & Singh, OP (2012). Efeitos da terapia com lítio na atividade Na + –K + -ATPase e na peroxidação lipídica no transtorno bipolar. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* , *37* (1), 56-61. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2011.12.006

Barbato, A., Bossini, L., Calugi, S., D'Avanzo, B., Fagiolini, A., Koukouna, D., ... & Vallarino, M. (2013). Validation of the Italian version of the Functioning Assessment Short Test (FAST) for bipolar disorder. *Epidemiology and psychiatric sciences*, *22*(2), 187-194. https://dx.doi.org/10.1017/S2045796012000522.

Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. C. G., De Paula, S. O., Minim Valéria, P. R., and Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição* 23, 629–643. https://doi:10.1590/S1415-52732010000400013

Barbosa, I. G., Huguet, R. B., Mendonça, V. A., Sousa, L. P., Neves, F. S., Bauer, M. E., et al. (2011a). Increased plasma levels of soluble TNF receptor I in patients with bipolar disorder. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci*. 261,139–143. https://doi:10.1007/s00406-010-0116-z

Barbosa, I. G., Huguet, R. B., Sousa, L. P., Abreu, M. N. S., Rocha, N. P., Bauer, M. E., ... & Teixeira, A. L. (2011b). Circulating levels of GDNF in bipolar disorder. *Neuroscience letters*, *502*(2), 103-106. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.07.031

Barbosa, I. G., Rocha, N. P., Huguet, R. B., Ferreira, R. A., Salgado, J. V., Carvalho, L. A., ... & Teixeira, A. L. (2012). Executive dysfunction in euthymic bipolar disorder patients and its association with plasma biomarkers. *Journal of affective disorders*, *137*(1-3), 151-155. https://doi.org/10.1016/j.jad.2011.12.034

Barbosa, I. G., Machado-Vieira, R., Soares, J. C., & Teixeira, A. L. (2014). The immunology of bipolar disorder. *Neuroimmunomodulation*, *21*(2-3), 117-122. https://doi.org/10.1159/000356539

Barbosa, I. G., de Almeida Ferreira, R., Rocha, N. P., Mol, G. C., Leite, F. D. M. C., Bauer, I. E., & Teixeira, A. L. (2018). Predictors of cognitive performance in bipolar disorder: the role

of educational degree and inflammatory markers. *Journal of psychiatric research*, *106*, 31-37. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.09.003

Barnett, J. H., & Smoller, J. W. (2009). The genetics of bipolar disorder. *Neuroscience* 164, 331–343. https://doi:10.1016/j.neuroscience.2009.03.080

Barreiros, A. L. B. S., David, J. M., and David, J. P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. Quimica Nova 29, 113–123. https://doi:10.1590/S0100-40422006000100021

Bauer, I. E., Pascoe, M. C., Wollenhaupt-Aguiar, B., Kapczinski, F., & Soares, J. C. (2014). Inflammatory mediators of cognitive impairment in bipolar disorder. *Journal of psychiatric research*, *56*, 18-27. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.04.017

Bearden, C. E., Shih, V. H., Green, M. F., Gitlin, M., Sokolski, K. N., Levander, E., ... & Altshuler, L. L. (2011). The impact of neurocognitive impairment on occupational recovery of clinically stable patients with bipolar disorder: a prospective study. *Bipolar disorders*, *13*(4), 323-333. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2011.00928.x

Beech, R. D., Lowthert, L., Leffert, J. J., Mason, P. N., Taylor, M. M., Umlauf, S., ... & Bhagwagar, Z. (2010). Increased peripheral blood expression of electron transport chain genes in bipolar depression. *Bipolar disorders*, 12(8), 813-824. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2010.00882.x

Belmaker, R. H. (2004). 'Bipolar Disorder', *N Engl J Med*. 351, 476-86.

Ben-Shachar, D., & Karry, R. (2008). Neuroanatomical pattern of mitochondrial complex I pathology varies between schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *PloS one*, 3(11), e3676. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003676

Bengesser, S. A., Lackner, N., Birner, A., Fellendorf, F. T., Platzer, M., Mitteregger, A., ... & Reininghaus, E. Z. (2015). Peripheral markers of oxidative stress and antioxidative defense in euthymia of bipolar disorder—gender and obesity effects. *Journal of affective disorders*, *172*, 367-374. https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.10.014

Berk, M. (2009). Neuroprogression: pathways to progressive brain changes in bipolar disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *12*(4), 441-445. https://doi.org/10.1017/S1461145708009498

Berk, M., Kapczinski, F., Andreazza, A. C., Dean, O. M., Giorlando, F., Maes, M., ... & Malhi, G. S. (2011). Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on

inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, *35*(3), 804-817. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.10.001

Berk, M., Williams, L. J., Jacka, F. N., O'Neil, A., Pasco, J. A., Moylan, S., ... & Maes, M. (2013). So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from?. *BMC medicine*, *11*(1), 1-16. https://doi:10.1186/1741-7015-11-200

Beyer, J. L., Taylor, W. D., MacFall, J. R., Kuchibhatla, M., Payne, M. E., Provenzale, J. M., & Krishnan, K. R.R. (2005). Cortical white matter microstructural abnormalities in bipolardisorder. *Neuropsychopharmacology*, *30*(12), 2225-2229. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300802

Bhattacharya, A., Derecki, N. C., Lovenberg, T. W., and Drevets, W. C. (2016). Role of neuro-immunological factors in the pathophysiology of mood disorders. *Psychopharmacology* 233, 1623–1636. https://doi:10.1007/s00213-016-4214-0

Binici, N. C., Emiroğlu, F. N. I., Resmi, H., & Ellidokuz, H. (2016). Serum brain-derived neurotrophic factor levels among euthymic adolescents with bipolar disorder type I. *Archives of Neuropsychiatry*, *53*(3), 267. https://doi.org/10.5152/npa.2015.8832

Blair, C., Zelazo, P. D., & Greenberg, M. T. (2005). The measurement of executive function in early childhood. *Developmental neuropsychology*, *28*(2), 561-571. https://dx.doi.org/10.1207/s1532942dn2802_1

Blass, J. P., and Brown, A. M. (2000). Lower activity of Krebs cycle enzymes than of electron transport in human brain: disease implications. Neurobiol. Aging 21:81. https://doi:10.1016/S0197-4580(00)82590-7

Boban, M., Malojčić, B., Mimica, N., Vuković, S., & Zrilić, I. (2012). The frontal assessment battery in the differential diagnosis of dementia. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, *25*(4), 201-207. https://doi.org/10.1177/0891988712464821

Bonelli, R. M., & Cummings, J. L. (2007). Frontal- subcortical circuitry and behavior. *Dialogues in clinical neuroscience*, *9*(2), 141. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17726913

Bonnín, C. M Lima, C. F., Meireles, L. P., Fonseca, R., Castro, S. L., & Garrett, C. (2008). The Frontal Assessment Battery (FAB) in Parkinson's disease and correlations with formal measures of executive functioning. *Journal of neurology*, *255*(11), 1756-1761. https://doi.org/10.1007 / s00415-008-0024-6

Bonnín, C. M., Martínez-Arán, A., Torrent, C., Pacchiarotti, I., Rosa, A. R., Franco, C., &

Vieta, E. (2010). Clinical and neurocognitive predictors of functional outcome in bipolar euthymic patients: a long- term, follow-up study. *Journal of affective disorders*, *121*(1-2), 156-160. https://doi:10.1016/j.jad.2009.05.014.

Bonnín, C. M., Sanchez-Moreno, J., Martinez-Aran, A., Sole, B., Reinares, M., Rosa, A. R., ... & Torrent, C. (2012). Subthreshold symptoms in bipolar disorder: impact on neurocognition, quality of life and disability. *Journal of affective disorders*, *136*(3), 650-659. https://doi.org/10.1016/j.jad. 2011.10.012

Bonnín, C. M., Martínez-Arán, A., Reinares, M., Valentí, M., Solé, B., Jiménez, E., ... & Rosa, A. R. (2018). Thresholds for severity, remission and recovery using the functioning assessment short test (FAST) in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *240*, 57-62. https://doi:10.1016 / j.jad.2018.07.045

Bora, E., Vahip, S., Akdeniz, F., İlerisoy, H., Aldemir, E., & Alkan, M. (2008). Executive and verbal working memory dysfunction in first-degree relatives of patients with bipolar disorder. *Psychiatry Research*, *161*(3), 318-324. https://doi:10.1016 / j.psychres.2007.09.002

Bora, E., Fornito, A., Yücel, M., & Pantelis, C. (2010). Voxelwise meta-analysis of gray matter abnormalities in bipolar disorder. *Biological psychiatry*, *67*(11), 1097- 1105. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.01.020

Borges, S. Q., Corrêa, T. X., Trindade, I. O. A., Amorim, R. F. B., and Toledo, M. A. V. (2019). Cognitive impairment in bipolar disorder Neuroprogression or behavioral variant frontotemporal dementia? Dement.Neuropsychol. 13, 475–480. https://10.1590/1980-57642018dn13-040016

Bourne, C., Aydemir, Ö., Balanzá-Martínez, V., Bora, E., Brissos, S., Cavanagh, J. T. O., ... & Goodwin, G. M. (2013). Neuropsychological testing of cognitive impairment in euthymic bipolar disorder: an individual patient data meta-analysis. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *128*(3), 149-162. https://doi.org/10.1111/acps.12133

Brietzke, E., Kauer-Sant'Anna, M., Teixeira, A. L., and Kapczinsk, F. (2009a) Comparison of cytokine levels in depressed, manic and euthymic patients with bipolar disorder. *J. Affect. Disord.* 116, 214–217. https://doi:10.1016/j.jad.2008.12.001

Brietzke, E., Kauer-Sant'Anna, M., Teixeira, A. L., and Kapczinsk, F. (2009b). Abnormalities in serum chemokine levels in euthymic patients with bipolar disorder. *Brain Behav. Immun*. 23, 1079–1082. https://doi:10.1016/j.bbi.2009.04.008

Brietzke, E., & Teixeira, A. (2010). Similar immune profile in bipolar disorder and

schizophrenia: selective increase in soluble tumor necrosis factor receptor I and von Willebrand factor. *Bipolar disorders*, *12*(4), 453-454. http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-5618.2010.00822.x

Brown, N. C., Andreazza, A. C., & Young, L. T. (2014). An updated meta-analysis of oxidative stress markers in bipolar disorder. *Psychiatry Research*, *218*(1-2), 61-68. https://doi.org/10.1016/j.psychres.2014.04.005

Brugger, F., Abela, E., Hägele-Link, S., Bohlhalter, S., Galovic, M., & Kägi, G. (2015). Do executive dysfunction and freezing of gait in Parkinson's disease share the same neuroanatomical correlates?. *Journal ofthe neurological sciences*,*356*(1-2),184-187. https://doi.org/10.1016/j.jns.2015.06.046

Bubber, P., Tang, J., Haroutunian, V., Xu, H., Davis, K. L., Blass, J. P., et al. (2004). Mitochondrial enzymes in schizophrenia. J. Mol. Neurosci. 24, 315–321. https://doi:10.1385/JMN:24:2:315

Bubber, P., Hartounian, V., Gibson, G. E., and Blass, J. P. (2011). Abnormalities in the tricarboxylic acid (TCA) cycle in the brains of schizophrenia patients. *Eur. Neuropsychopharmacol*. 21, 254–260. https://doi:10.1016/j.euroneuro.2010.10.007

Buoli, M., Caldiroli, A., Caletti, E., Zugno, E., & Altamura, A. C. (2014). The impact of mood episodes and duration of illness on cognition in bipolar disorder. *Comprehensive psychiatry*, *55*(7), 1561-1566. https://doi.org/10.1016/j.comppsych.2014.06.001

Burgess, P. W., & Stuss, D. T. (2017). Fifty years of prefrontal cortex research: impact on assessment. *Journal of the International Neuropsychological Society*, *23*(9-10), 755-767. https://doi:10.1017/S1355617717000704

Cacilhas, A. A., da Silva Magalhães, P. V., Ceresér, K. M., Walz, J. C., Weyne, F., Rosa, A. R., ... & Kapczinski, F. (2009). Validity of a short functioning test (FAST) in Brazilian outpatients with bipolar disorder. *Value in health*, *12*(4), 624-627. https://doi.org/10.1111/j.1524-4733.2008.00481.x

Caixeta, L., Soares, V. L., Vieira, R. T., Soares, C. D., Caixeta, V., Ferreira, S. B., & Aversi-Ferreira, T. A. (2017). Executive function is selectively impaired in old age bipolar depression. *Frontiers in psychology*, *8*, 194. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00194

Carlson, G. A., Kotov, R., Chang, S. W., Ruggero, C., & Bromet, E. J. (2012). Early determinants of four-year clinical outcomes in bipolar disorder with psychosis. *Bipolar Disorders*, *14*(1), 19-30. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2012.00982.x

Carter, C. J. (2007). Multiple genes and factors associated with bipolar disorder converge on

growth factor and stress activated kinase pathways controlling translation initiation: implications for oligodendrocyte viability. *Neurochemistry international*, *50*(3), 461-490. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2006.11.009

Caspi, A., Moffitt, T. E., Newman, D. L., & Silva, P. A. (1996). Behavioral observations at age 3 years predict adult psychiatric disorders: Longitudinal evidence from a birth cohort. *Archives of general psychiatry*, *53*(11), 1033-1039. https://doi:10.1001/archpsyc.1996.01830110071009

Cassina, A., & Radi, R. (1996). Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Archives of biochemistry and biophysics*, *328*(2), 309-316. https://doi.org/10.1006/abbi.1996.0178

Cavalcanti, J. H. F., Esteves-Ferreira, A. A., Quinhones, C. G. S., Pereira-Lima, I. A., Nunes-Nesi, A., Fernie, A. R., et al. (2014). Evolution and functional implications of the tricarboxylic acid cycle as revealed by phylogenetic analysis. *Genome Biol. Evol*. 6, 2830–2848. https://doi:10.1093/gbe/evu221

Cetin, T., Guloksuz, S., Cetin, E. A., Gazioglu, S. B., Deniz, G., Oral, E. T., & van Os, J. (2012). Plasma concentrations of soluble cytokine receptors in euthymic bipolar patients with and without subsyndromal symptoms. *BMC psychiatry*, *12*(1), 1-7. http://dx.doi.org/10.1186/1471-244X-12-158

Cha, B., Kim, J. H., Ha, T. H., Chang, J. S., & Ha, K. (2009). Polarity of the first episode and time to diagnosis of bipolar I disorder. *Psychiatry investigation*, *6*(2), 96–101. https://doi.org/10.4306/pi.2009.6.2.96

Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, *61*(2), 192-208. https://doi.org/10.1007/s00018-003-3206-5

Chen, Y. R., Swann, A. C., & Johnson, B. A. (1998). Stability of diagnosis in bipolar disorder. *The Journal of nervous and mental disease*, *186*(1), 17-23. https://doi.org/10.1097 / 00005053-199801000-00004

Chen, G. Y., & Nuñez, G. (2010). Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nature Reviews Immunology*, *10*(12), 826-837. https://doi:10.1038/nri2873

Chung, C. P., Schmidt, D., Stein, C. M., Morrow, J. D., & Salomon, R. M. (2013). Increased oxidative stress in patients with depression and its relationship to treatment. *Psychiatry research*, *206*(2-3), 213-216.https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.10.018

Clemente, A. S., Diniz, B. S., Nicolato, R., Kapczinski, F. P., Soares, J. C., Firmo, J. O., et al. (2015). Bipolar disorder prevalence: a systematic review and meta-analysis of the literature. *Braz. J. Psychiatry* 37, 155–161. https://doi:10.1590/1516-4446-2012-1693

Collin, F. (2019). Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 20:2407. https://doi:10.3390/ijms20102407

Corena-McLeod, M., Walss-Bass, C., Oliveros, A., Gordillo Villegas, A., Ceballos, C., Charlesworth, C. M., ... & Richelson, E. (2013). New model of action for mood stabilizers: phosphoproteome from rat pre-frontal cortex synaptoneurosomal preparations. *PloS one*, *8*(5), e52147. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052147

Cudney, L. E., Sassi, R. B., Behr, G. A., Streiner, D. L., Minuzzi, L., Moreira, J. C., & Frey, B. N. (2014). Alterations in circadian rhythms are associated with increased lipid peroxidation in females with bipolar disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *17*(5), 715-722. https://doi.org/10.1017/S1461145713001740

Cunha, P. J., & Novaes, M. A. (2004). Neurocognitive assessment in alcohol abuse and dependence: implications for treatment. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *26*, 23-27. https://doi.org/10.1590/S1516-44462004000500007

Cunha, A. B., Frey, B. N., Andreazza, A. C., Goi, J. D., Rosa, A. R., Gonçalves, C. A., ... & Kapczinski, F. (2006). Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neuroscience letters*, *398*(3), 215-219. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.12.085

Cunha, P. J., Nicastri, S., de Andrade, A. G., & Bolla, K. I. (2010). The frontal assessment battery (FAB) reveals neurocognitive dysfunction in substance-dependent individuals in flexibility. *Addictive behaviors*, *35*(10), 875-881. https://doi.org/10. 1016/j.addbeh.2010.05.005

Cyrino, L. A. R., Delwing-de Lima, D., Ullmann, O. M., & Maia, T. P. (2021). Concepts of Neuroinflammation and Their Relationship With Impaired Mitochondrial Functions in Bipolar Disorder. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *15*. https://doi:10.3389/fnbeh.2021.609487

Cyrino, L. A. R., Lima, D. D.- de, Ullmann, O. M., Maia, T. P., & Sardo, A. C. (2020). Bioquímica Mitocondrial e Estresse Oxidativo no Bipolar: Novos Horizontes. *Revista Contexto &Amp; Saúde*, *20*(39), 6–18. https://doi.org/10.21527/2176-7114.2020.39.6-18

Daban, C., Vieta, E., Mackin, P., & Young, A. H. (2005). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and bipolar disorder. *Psychiatric Clinics*, *28*(2), 469-480. https://doi.org/10.1016/j.psc.2005.01.005

De Sousa, R. T., Zarate Jr, C. A., Zanetti, M. V., Costa, A. C., Talib, L. L., Gattaz, W. F., & Machado-Vieira, R. (2014a). Oxidative stress in early stage bipolar disorder and the association with response to lithium. *Journal of psychiatric research*, 50, 36-41. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.11.011a

De Sousa, R. T., Uno, M., Zanetti, M. V., Shinjo, S. M., Busatto, G. F., Gattaz, W. F., ... & Machado-Vieira, R. (2014b). Leukocyte mitochondrial DNA copy number in bipolar disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 48, 32-35. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.09.002

De Sousa, R. T., Machado-Vieira, R., Zarate Jr, C. A., & Manji, H. K. (2014c). Targeting mitochondrially mediated plasticity to develop improved therapeutics for bipolar disorder. *Expert opinion on therapeutic targets*, *18*(10), 1131-1147. https://doi.org/10.1517/14728222.2014.940893

De Sousa, R. T., Streck, E. L., Zanetti, M. V., Ferreira, G. K., Diniz, B. S., Brunoni, A. R., ... & Machado-Vieira, R. (2015a). Lithium increases leukocyte mitochondrial complex I activity in bipolar disorder during depressive episodes. *Psychopharmacology*, 232(1), 245-250. https://doi.org/10.1007/s00213-014-3655-6

De Sousa, R. T., Streck, E. L., Forlenza, O. V., Brunoni, A. R., Zanetti, M. V., Ferreira, G. K., ... & Machado-Vieira, R. (2015b). Regulation of leukocyte tricarboxylic acid cycle in drug-naïve Bipolar Disorder. *Neuroscience letters*, 605, 65-68. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.08.022

Diamond, A. (2013). Executive functions. *Annual review of psychology*, *64*, 135-168. https://doi.org/10.1146/annurev-psych-113011-143750

Diaz, F., & Moraes, C. T. (2008). Mitochondrial biogenesis and turnover. *Cell calcium*, *44*(1), 24-35. https://doi.org/10.1016/j.ceca.2007.12.004

Ding, W. X., Li, M., Biazik, J. M., Morgan, D. G., Guo, F., Ni, H. M., ... & Yin, X. M. (2012). Electron microscopic analysis of a spherical mitochondrial structure. *Journal of Biological Chemistry*, *287*(50), 42373-42378. https://doi.org/10.1074/jbc.M112.413674

Dong, X. H., & Zhen, X. C. (2015). Glial pathology in bipolar disorder: potential therapeutic implications. *CNS neuroscience & therapeutics*, *21*(5), 393-397. https://doi.org/10.1111/cns.12390

Drake, C., Boutin, H., Jones, M. S., Denes, A., McColl, B. W., Selvarajah, J. R., ... & Allan, S.

M. (2011). Brain inflammation is induced by co-morbidities and risk factors for stroke. *Brain, behavior, and immunity*, *25*(6), 1113-1122. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.02.008

Drevets, W. C., Price, J. L., Simpson, J. R., Todd, R. D., Reich, T., Vannier, M., & Raichle, M. E. (1997). Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature*, *386*(6627), 824-827. https://doi.org/10.1038/386824a0

Dubois, B., Slachevsky, A., Litvan, I., & Pillon, B. F. A. B. (2000). The FAB: a frontal assessment battery at bedside. *Neurology*, *55*(11), 1621-1626. https://doi.org/10.1212 / wnl.55.11.1621

Ducray, A., Krebs, S. H., Schaller, B., Seiler, R. W., Meyer, M., & Widmer, H. R. (2006). GDNF family ligands display distinct action profiles on cultured GABAergic and serotonergic neurons of rat ventral mesencephalon. *Brain research*, *1069*(1), 104-112. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.11.056

Dudley, J., DelBello, M. P., Weber, W. A., Adler, C. M., Strakowski, S. M., & Lee, J. H. (2016). Tissue-dependent cerebral energy metabolism in adolescents with bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, 191, 248-255. https://DOI10.1016/j.jad.2015.11.045

Duman, R. S., & Monteggia, L. M. (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biological psychiatry*, *59*(12), 1116-1127. https://doi:10.1016/j.biopsych.2006.02.013.

Enríquez, J. A. (2016). Supramolecular organization of respiratory complexes. *Annual review of physiology*, *78*, 533-561. https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-02115-105031

Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current topics in medicinal chemistry*, *1*(6), 529-539. https://doi.org/10.2174/1568026013394831

Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P. Cadenas, S., et al. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. Redox Biol. 6, 183–197. https://doi:10.1016/j.redox.2015.07.008

Ezzaher, A., Mouhamed, D. H., Mechri, A., Neffati, F., Douki, W., Gaha, L., & Najjar, M. F. (2012). TBARs and non-enzymatic antioxidant parameters in Tunisian bipolar I patients. *Immuno-analyse & Biologie Specialisee*, *27*(6), 315-324. https://doi.org/10.1016/j.immbio.2012.06.003

Fagiolini, A., Frank, E., Scott, J. A., Turkin, S., & Kupfer, D. J. (2005). Metabolic syndrome in

bipolar disorder: findings from the Bipolar Disorder Center for Pennsylvanians. *Bipolar disorders*, *7*(5), 424-430. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2005.00234.x

Fagiolini, A., Forgione, R., Maccari, M., Cuomo, A., Morana, B., Dell'Osso, M. C., ... & Rossi, A. (2013). Prevalence, chronicity, burden and borders of bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, 148(2-3), 161-169. https://doi:10.1016/j.jad.2013.02.001.

Federico, A., Cardaioli, E., Da Pozzo, P., Formichi, P., Gallus, G. N., & Radi, E. (2012). Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of the neurological sciences*, *322*(1-2), 254-262. https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.05.030

Feier, G., Valvassori, S. S., Varela, R. B., Resende, W. R., Bavaresco, D. V., Morais, M. O., ... & Quevedo, J. (2013). Lithium and valproate modulate energy metabolism in an animal model of mania induced by methamphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *103*(3), 589-596. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.09.010

Ferensztajn, E., & Rybakowski, J. (2012). Etapy przebiegu choroby afektywnej dwubiegunowej [Staging of bipolar affective illness]. *Psychiatria polska*, *46*(4), 613-626.

Ferensztajn-Rochowiak, E., Chłopocka-Woźniak, M., & Rybakowski, J. K. (2020). Ultra-long-term lithium therapy: all-important matters and a case of successful 50-year lithium treatment. *Brazilian Journal of Psychiatry*. https://doi.org/10.1590/1516-4446-2020-1111

Fernandes, B. S., Gama, C. S., Walz, J. C., Ceresér, K. M., Fries, G. R., Colpo, G., ... & Kapczinski, F. (2010). Increased neurotrophin-3 in drug-free subjects with bipolar disorder during manic and depressive episodes. *Journal of psychiatric research*, *44*(9), 561-565. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2009.11.020

Fiedorowicz, J. G., Palagummi, N. M., Forman-Hoffman, V. L., Miller, D. D., & Haynes, W. G. (2008). Elevated prevalence of obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular risk factors in bipolar disorder. *Annals of Clinical Psychiatry*, *20*(3), 131-137. https://DOI:10.3109/10401230802177722

Fiedorowicz, J. G., Solomon, D. A., Endicott, J., Leon, A. C., Li, C., Rice, J. P., & Coryell, W. H. (2009). Manic/hypomanic symptom burden predicts cardiovascular mortality with bipolar disorder in the collaborative depression study. *Psychosomatic medicine*, *71*(6), 598. https://10.1097 / PSY.0b013e3181acee26

Finkel, T., Holbrook, N.J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature. 408, 239–247. https://DOI:10.1038 / 35041687

Fiorentino, N., Gleichgerrcht, E., Roca, M., Cetkovich, M., Manes, F., & Torralva, T. (2013). The INECO Frontal Screening tool differentiates behavioral variant-frontotemporal dementia (bv-FTD) from major depression. *Dementia & neuropsychologia*, *7*(1), 33-39. https://doi.org/10.1590 / S1980-57642013DN70100006

Fischer, J. C., Ruitenbeek, W., Berden, J. A., Trijbels, J. F., Veerkamp, J. H., Stadhouders, A. M., ... & Janssen, A. J. (1985). Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal muscle. *Clinica chimica acta*, *153*(1), 23-36. https://doi.org/10.1016/0009-8981(85)90135-4

Fontes, M. A., Bolla, K. I., Cunha, P. J., Almeida, P. P., Jungerman, F., Laranjeira, R. R., ... & Lacerda, A. L. (2011). Frontal Assessment Battery (FAB) is a simple tool for detecting executive deficits in chronic cannabis users. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, *33*(5), 523-531. https://doi.org/10. 1080/13803395.2010.535505

Formanova, P. P., Palus, M., Salat, J., Hönig, V., Stefanik, M., Svoboda, P., et al. (2019). Changes in cytokine and chemokine profiles in mouse serum and brain and in human neural cells, upon tick-borne encephalitis virus infection. *J. Neuroinflammation* 16:205. https://doi:10.1186/s12974-019-1596-z

Forrest, M. P., Parnell, E., and andPenzes, P. (2018). Dendritic structural plasticity and neuropsychiatric disease. *Nat. Rev. Neurosci*. 19, 215–234. https://doi:10.1038/nrn.2018.16

Fountoulakis, K. N., Kasper, S., Andreassen, O., Blier, P., Okasha, A., Severus, E., ... & Vieta, E. (2012). Efficacy of pharmacotherapy in bipolar disorder: a report by the WPA section on pharmacopsychiatry. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, *262*(1), 1-48. https://doi:10.1007/s00406-012-0323-x

Frangou, S., Raymont, V., & Bettany, D. (2002). The Maudsley bipolar disorder project. A survey of psychotropic prescribing patterns in bipolar Idisorder. *Bipolar disorders*, *4*(6), 378-385. https://doi.org/10.1034/j.1399-5618.2002.01223.x

Frey, B. N., Andreazza, A. C., Ceresér, K. M., Martins, M. R., Valvassori, S. S., Réus, G. Z., ... & Kapczinski, F. (2006). Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania. *Life sciences*, *79*(3), 281-286. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.01.002

Fries, G. R., Vasconcelos-Moreno, M. P., Gubert, C., Santos, B. T. M. Q. D., Sartori, J., Eisele, B., ... & Kauer-Sant'Anna, M. (2014). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction and illness progression in bipolar disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *18*(1). https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw031

Fritz, K., Russell, A. M., Allwang, C., Kuiper, S., Lampe, L., & Malhi, G. S. (2017). Is a delay in the diagnosis of bipolar disorder inevitable? *Bipolar disorders*, *19*(5), 396-400. https://doi.org/10.1111/bdi.12499

Fullerton, J. M., Tiwari, Y., Agahi, G., Heath, A., Berk, M., Mitchell, P. B., & Schofield, P. R. (2010). Assessing oxidative pathway genes as risk factors for bipolar disorder. *Bipolar disorders*, *12*(5), 550-556. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2010.00834.x

Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., et al. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat. Med*. 25, 1822–1832. https://doi:10.1038/s41591-019-0675-0

Gama, C. S., Kunz, M., Magalhães, P. V. S., & Kapczinski, F. (2013). Staging and neuroprogression in bipolar disorder: a systematic review of the literature. *Braz. J. Psychiatry* 35, 70–74. https://doi:10.1016/j.rbp.2012.09.001

Ganzel, B. L., Morris, P. A., and andWethington, E. (2010). Allostasis and the human brain: integrating models of stress from the social and life sciences. *Psychol. Rev*. 117, 134–174. https://doi:10.1037/a0017773

Garcia-Portilla, M. P., Saiz, P. A., Bascaran, M. T., Martíneza, S., Benabarre, A., Sierra, P., ... & General Health Status in Bipolar Disorder Collaborative Group. (2009). Cardiovascular risk in patients with bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *115*(3), 302-308. https://doi.org/10.1016/j.jad.2008.09.008

Gawryluk, J. W., Wang, J. F., Andreazza, A. C., Shao, L., & Young, L. T. (2011). Decreased levels of glutathione, the major brain antioxidant, in post-mortem prefrontal cortex from patients with psychiatric disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *14*(1), 123-130. https://doi.org/10.1017/S1461145710000805

Geddes, J. R., & Miklowitz, D. J. (2013). Treatment of bipolar disorder. *Lancet (London, England)*, *381*(9878), 1672–1682. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60857-0

Gergerlioglu, H. S., Savas, H. A., Bulbul, F., Selek, S., Uz, E., & Yumru, M. (2007). Changes in nitric oxide level and superoxide dismutase activity during antimanic treatment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *31*(3), 697-702. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2006.12.020

Gershon, A., Johnson, S. L., & Miller, I. (2013). Chronic stressors and trauma: prospective influences on the course of bipolar disorder. *Psychological medicine*, *43*(12), 2583-2592. https://doi.org/10.1017/S0033291713000147

Ghezzi, D., and Zeviani, M. (2012). Assembly factors of human mitochondrial respiratory chain complexes: physiology and pathophysiology. *Adv. Exp. Med. Biol.* 748, 65–106. https://doi:10.1007/978-1-4614-3573-0_4

Gill, S. S., and Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant. Physiol. Biochem.* 48, 909–930. https://doi:10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Gitlin, M. J., Swendsen, J., Heller, T. L., & Hammen, C. (1995). Relapse and impairment in bipolar disorder. *The American journal of psychiatry*. https://doi.org/10.1176/ajp.152.11.1635

Gitlin, M. J., Mintz, J., Sokolski, K., Hammen, C., & Altshuler, L. L. (2011). Subsyndromal depressive symptoms after symptomatic recovery from mania are associated with delayed functional recovery. *The Journal of clinical psychiatry*, *72*(5), 692-697. https://doi.org/10.4088/JCP.09m05291gre

Goetz, I., Tohen, M., Reed, C., Lorenzo, M., Vieta, E., & EMBLEM Advisory Board. (2007). Functional impairment in patients with mania: baseline results of the EMBLEM study. *Bipolar disorders*, *9* (1-2), 45-52. https://doi:10.1111/j.1399-5618.2007.00325.x

Goldsmith, D. R., Rapaport, M. H., and Miller, B. J. (2016). A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol. Psychiatry* 21, 1696–1709. https://doi:10.1038/mp.2016.3

Goldstein, B. I., Kemp, D. E., Soczynska, J. K., & McIntyre, R. S. (2009). Inflammation and the phenomenology, pathophysiology, comorbidity, and treatment of bipolar disorder: a systematic review of the literature. *The Journal of clinical psychiatry*, *70*(8), 0-0.

Goldstein, S., Naglieri, J. A., Princiotta, D., & Otero, T. M. (2014). A history of executive functioning as a theoretical and clinical construct. *Handbook of Executive Functioning. New York: Springer New York.* https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8106-5_1

Goodkind, M., Eickhoff, S. B., Oathes, D. J., Jiang, Y.,Chang, A., Jones-Hagata, L. B., …& Etkin, A. (2015). Identification of a common neurobiological substrate for mentalillness. *JAMA psychiatry*, *72*(4), 305-315. https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2014.2206

Goodwin, F. K. (2002). Rationale for long-term treatment of bipolar disorder and evidence for long-term lithium treatment. *Journal of Clinical Psychiatry*, *63*, 5-12.

Goodwin, F. K., & Jamison, K. R. (2007). Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression. New York, NY: Oxford University Press. https://global.oup.com/academic/product/manicdepressive-illness-9780195135794?cc=usandlang=enand

Goswami, U., Sharma, A., Khastigir, U., Ferrier, I. N.,Young, A. H., Gallagher, P.,& Moore, P. B. (2006). Neuropsychological dysfunction, soft neurological signs and social disability in euthymic patients with bipolardisorder. *The British Journal of Psychiatry*, *188*(4), 366- 373. https://doi.org/10.1192/bjp.188.4.366

Gowda, S. N., Chandak, S., Sawant, V., & Kulkarni, A. (2017). Comparison of neurocognitive deficits among euthymic bipolar I disorder patients, their first degree relatives and healthy controls. *Int J Adv Med*, *4*(3), 656-660. http://dx.doi.org/10.18203/2349-3933.ijam20171513

Grande, I., Magalhães, P. V., Kunz, M., Vieta, E., & Kapczinski, F. (2012). Mediators of allostasis and systemic toxicity in bipolar disorder. *Physiology & behavior*, *106*(1), 46-50. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.10.029

Grande, I., Magalhães, P. V., Chendo, I., Stertz, L., Panizutti, B., Colpo, G. D., ... & Vieta, E. (2014). Staging bipolar disorder: clinical, biochemical, and functional correlates. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *129*(6), 437-444. https://doi.org/10.1111/acps.12268

Gray, L. R., Tompkins, S. C., and Taylor, E. B. (2014). Regulation of pyruvate metabolism and human disease. Cell. Mol. Life Sci 71, 2577–2604 https://doi:10.1007/s00018-013-1539-2

Gubert, C., Stertz, L., Pfaffenseller, B., Panizzutti, B. S., Rezin, G. T., Massuda, R., ... & Kunz, M. (2013). Mitochondrial activity and oxidative stress markers in peripheral blood mononuclear cells of patients with bipolar disorder, schizophrenia, and healthy subjects. *Journal of psychiatric research*, *47*(10), 1396-1402. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.06.018

Guirado, R., Perez-Rando, M., Ferragud, A., Gutierrez-Castellanos, N., Umemori, J., Carceller, H., ... & Castillo-Gómez, E. (2020). A critical period for prefrontal network configurations underlying psychiatric disorders and addiction. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *14*, 51. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00051

Hall, B. S., Moda, R. N., and Liston, C. (2015). Glucocorticoid mechanisms of functional connectivity changes in stress-related neuropsychiatric disorders. *Neurobiol. Stress* 1, 74–83. https://doi:10.1016/j.ynstr.2014.10.008

Halliwell, B. (2001). Role of Free Radicals in the Neurodegenerative Diseases. *Drugs & Aging* 18, 685–716 https://doi.org/10.2165/00002512-200118090-00004

Halliwell, B. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of neurochemistry*, *97*(6), 1634-1658. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x

Hamdani, N., Tamouza, R., & Leboyer, M. (2012). Immuno-inflammatory markers of bipolar disorder: a review of evidence. *Front Biosci (Elite Ed)*, *4*, 2170-2182.

Hamdani, N., Doukhan, R., Kurtlucan, O., Tamouza, R., and Leboyer, M. (2013). Immunity, inflammation, and bipolar disorder: diagnostic and therapeutic implications. *Curr. Psychiatry Rep.* 15:387. https://doi:10.1007/s11920-013-0387-y

Hamilton, M. (1960). A rating scale for depression. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, *23*(1), 56. https://doi.org/10.1136 / jnnp.23.1.56.

Hawton K, Sutton L, Haw C, Sinclair J, Harriss L. Suicide and attempted suicide in bipolar disorder: a systematic review of risk factors. J Clin Psychiatry. 2005;66(6):693–704.

Haxaire, C., Turpin, F. R., Potier, B., Kervern, M., Sinet, P. M., Barbanel, G., ... & Billard, J. M. (2012). Reversal of age-related oxidative stress prevents hippocampal synaptic plasticity deficits by protecting d-serine-dependent NMDA receptor activation. *Aging cell*, *11*(2), 336-344. https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00792.x

He, T., and Katusic, Z. S. (2012). Brain-derived neurotrophic factor increases expression of MnSOD in human circulating angiogenic cells. *Microvasc. Res.* 83, 366–371. https://doi:10.1016/j.mvr.2012.01.001

Herberth, M., Koethe, D., Levin, Y., Schwarz, E., Krzyszton, N. D., Schoeffmann, S., ... & Bahn, S. (2011). Peripheral profiling analysis for bipolar disorder reveals markers associated with reduced cell survival. *Proteomics*, *11*(1), 94-105. https://doi.org/10.1002/pmic.201000291

Hirschfeld, R. M. (2014). Differential diagnosis of bipolar disorder and major depressive disorder. *Journal of affective disorders*, *169*, S12-S16. https://doi.org/10.1016/S0165-0327(14)70004-7

Hoertel, N., Le Strat, Y., Angst, J., & Dubertret, C. (2013). Subthreshold bipolar disorder in a U.S. national representative sample: prevalence, correlates and perspectives for psychiatric nosography. *J. Affect. Disord*. 146, 338–347. https://doi:10.1016/j.jad.2012.09.016

Hoffmann, M. (2013). The human frontal lobes and frontal network systems: an evolutionary, clinical, and treatment perspective. *International Scholarly ResearchNotices*, *2013*. https://doi.org/10.1155/2013/892459

Hope, S., Melle, I., Aukrust, P., Steen, N. E., Birkenaes, A. B., Lorentzen, S., et al. (2009). Similar immune profile in bipolar disorder and schizophrenia: selective increase in soluble tumor necrosis factor receptor I and von Willebrand factor. *Bipolar Disord*. 11, 726–734. https://doi:10.1111/j.1399-5618.2009.00757.x

Hoppe, U. C. (2010). Mitochondrial calcium channels. *FEBS letters*, *584*(10), 1975-1981. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.04.017

Hope, S., Dieset, I., Agartz, I., Steen, N. E., Ueland, T., Melle, I., ... & Andreassen, O. A. (2011). Affective symptoms are associated with markers of inflammation and immune activation in bipolar disorders but not in schizophrenia. *Journal of psychiatric research*, *45*(12), 1608-1616. http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2011.08.00

Horton, A. M., and Wedding, D. (eds) (2008). The Neuropsychology, *3rd Edn*. New York, NY: Springer Publishing Company. https://psycnet.apa.org/record/2007-16755-000

Hoyo-Becerra, C., Schlaak, J. F., and Hermann, D. M. (2014). Insights from interferon-a-related depression for the pathogenesis of depression associated with inflammation. *Brain Behav. Immu*n. 42, 222–231. https://doi:10.1016/j.bbi.2014.06.200

Hroudová, J., Fišar, Z., Hansíková, H., Kališová, L., Kitzlerová, E., Zvěřová, M., ... & Raboch, J. (2019). Mitochondrial dysfunction in blood platelets of patients with manic episode of bipolar disorder. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 18(3), 222-231. https://DOI10.2174/1871527318666181224130011

Huang, T. L., Hung, Y. Y., Lee, C. T., & Chen, R. F. (2012). Serum protein levels of brain-derived neurotrophic factor and tropomyosin-related kinase B in bipolar disorder: effects of mood stabilizers. *Neuropsychobiology*, *65*(2), 65-69. https://doi.org/10.1159/000328991

Hurtado-Pomares, M., Carmen Terol-Cantero, M., Sánchez-Pérez, A., Peral-Gómez, P., Valera-Gran, D., & Navarrete-Muñoz, E. M. (2018). The frontal assessment battery in clinical practice: a systematic review. *International journal of geriatric psychiatry*, *33*(2), 237-251. https://doi.org/10.1002/gps.4751

Husain, S. R., Cillard, J., & Cillard, P. (1987). Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, *26*(9),2489-2491. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)83860-1

Ifeanyi, O. E. (2018). A review on free radicals and antioxidants. *Int. J. Curr. Res. Med. Sci*, *4*(2), 123-133. http://dx.doi.org/10.22192/ijcrms.2018.04.02.019

Ighodaro, O. M., and Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandr. J. Med. 54, 287–293. https://doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001

Ilhan, R. S., & Sentürk Cankorur, V. (2015). Clinical and Cognitive Predictors of Psychosocial Functioning During the Euthymic Period in Bipolar Disorder Type II. *Turk Psikiyatri Dergisi*, *26*(1). https://doi.org/10.5080/u7695

Iwamoto, K., Bundo, M., & Kato, T. (2005). Altered expression of mitochondria-related genes in postmortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large-scale DNA microarray analysis. *Human molecular genetics*, *14*(2), 241-253. https://doi.org/10.1093/hmg/ddi022

Jacoby, A. S., Munkholm, K., Vinberg, M., Pedersen, B. K., and Kessing, L. V. (2016). Cytokines, brain-derived neurotrophic factor and C-reactive protein in bipolar I disorder—results from a prospective study. *J. Affect. Disor*d. 197, 167–174. https://doi:10.1016/j.jad.2016.03.040

Jansen, K., Mondin, T. C., de Azevedo Cardoso, T., da Costa Ores, L., de Mattos Souza, L. D., Pinheiro, R. T., ... & da Silva, R. A. (2013). Quality of life and mood disorder episodes: community sample. *Journal of affective disorders*, *147*(1-3), 123-127. https://doi:10.1016/j.jad.2012.10.021

Jayasinghe, S. U., Lambert, G. W., Torres, S. J., Fraser, S. F., Eikelis, N., & Turner, A. I. (2016). Hypothalamo-pituitary adrenal axis and sympatho-adrenal medullary system responses to psychological stress were not attenuated in women with elevated physical fitness levels. *Endocrine*, *51*(2), 369-379. https://doi:10.1007/s12020-015-0687-6

Jeeva, J. S., Sunitha, J., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M. and Krishnan, R. (2015). Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. *J. Pharm. Bioallied Sci*. 7, 331–333. https://doi:10.4103/0975-7406.163438

Jiménez-Fernández, S., Gurpegui, M., Garrote-Rojas, D., Gutiérrez-Rojas, L., Carretero, M. D., & Correll, C. U. (2021). Oxidative stress parameters and antioxidants in patients with bipolar

disorder: Results from a meta-analysis comparing patients, including stratification by polarity and euthymic status, with healthy controls. *Bipolar Disorders*, *23*(2), 117-129. https://doi.org/10.1111/bdi.12980

Jornada, L. K., Moretti, M., Valvassori, S. S., Ferreira, C. L., Padilha, P. T., Arent, C. O., ... & Quevedo, J. (2010). Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain. *Journal of psychiatric research*, *44*(8), 506-510. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2009.11.002

Jornada, L. K., Valvassori, S. S., Resende, W. R., Moretti, M., Ferreira, C. L., Fries, G. R., ... & Quevedo, J. (2012). Decreased BDNF levels in amygdala and hippocampus after intracerebroventricular administration of ouabain. *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*, *39*, 157-160.

Juster, R. P., Smith, N. G., Ouellet, É., Sindi, S., & Lupien, S. J. (2013). Sexual orientation and disclosure in relation to psychiatric symptoms, diurnal cortisol, and allostatic load. *Psychosom. Med*. 75, 103–116. https://doi:10.1097/PSY. 0b013e3182826881

Kaminski, M. M., Röth, D., Krammer, P. H., & Gülow, K. (2013). Mitochondria as oxidative signaling organelles in T-cell activation: physiological role and pathological implications. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, *61*(5), 367-384. https://doi:10.1007/s00005-013-0235-0

Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: kyoto encyclopedia of genes and enomes. *Nucleic acids research*, *28*(1), 27-30. https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27

Kany, S., Vollrath, J. T., and Relja, B. (2019). Cytokines in inflammatory disease. *Int. J. Mol. Sci.* 20:6008. https://doi:10.3390/ijms20236008

Kapczinski F, Frey BN, Kauer-Sant'anna M, Grassi-Oliveira R. (2008a). Brain-derived neurotrophic factor and neuroplasticity in bipolar disorder. *Expert Rev Neurother*; 8:1101-3. http://dx.doi.org/10.1586/14737175.8.7.1101 14.

Kapczinski, F., Vieta, E., Andreazza, A. C., Frey, B. N., Gomes, F. A., Tramontina, J., ... & Post, R. M. (2008b). Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *32*(4), 675-692. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.10.005

Kapczinski, F., Dias, V. V., Kauer-Sant'Anna, M., Brietzke, E., Vázquez, G. H., Vieta, E., & Berk, M. (2009a). The potential use of biomarkers as an adjunctive tool for staging bipolar disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *33*(8), 1366-

1371. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.07.027

Kapczinski, F., Dias, V. V., Kauer-Sant'Anna, M., Frey, B. N., Grassi-Oliveira, R., Colom, F., & Berk, M. (2009b). Clinical implications of a staging model for bipolar disorders. *Expert review of neurotherapeutics*, *9*(7), 957-966. https://doi.org/10.1586/ern.09.31

Kapczinski, F., Dal-Pizzol, F., Teixeira, A., Magalhaes, P. V. S., Kauer-Sant'Anna, M., Klamt, F., et al. (2010). A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes. Mol. Psychiatry 15, 784–786. https://doi:10.1038/mp.2009.112

Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, KauerSant'Anna M, Klamt F, Moreira JC, de Bittencourt Pasquali MA, Fries GR, Quevedo J, Gama CS, Post R. (2011). Peripheral biomarkers and illness activity in bipolar disorder. *J Psychiatr Res*; 45(2):156-61.

Kato, T. A., Yamauchi, Y., Horikawa, H., Monji, A., Mizoguchi, Y., Seki, Y., et al. (2013). Neurotransmitters, psychotropic drugs and microglia: clinical implications for psychiatry. *Curr. Med. Chem*. 20, 331–344. https://doi:10.2174/0929867311320030003

Kato, T., and Iwamoto, K. (2014). Comprehensive DNA methylation and hydroxymethylation analysis in the human brain and its implication in mental disorders. *Neuropharmacology* 80, 133–139. https://doi:10.1016/j.neuropharm.2013. 12.019

Katoh-Semba, R., Wakako, R., Komori, T., Shigemi, H., Miyazaki, N., Ito, H., .. & Nakayama, A. (2007). Age-related changes in BDNF protein levels in human serum: differences between autism cases and normal controls. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *25*(6), 367-372. https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2007.07.002

Kauer-Sant'Anna, M., Kapczinski, F., Andreazza, A. C., Bond, D. J., Lam, R. W., Young, L. T., et al. (2009). Brain-derived neurotrophic factor and inflammatory markers in patients with early- vs. late-stage bipolar disorder. *Int.J. Neuropsychopharmacol.* 12, 447–458. https://doi:10.1017/S1461145708009310

Kausar, S., Wang, F., and Cui, H. (2018). The role of mitochondria in reactive oxygen species generation and its implications for neurodegenerative diseases. *Cells* 7:274. https://doi:10.3390/cells7120274

Keck Jr, P. E., McElroy, S. L., Strakowski, S. M., West, S. A., Sax, K. W., Hawkins, J. M., ... & Haggard, P. (1998). 12-month outcome of patients with bipolar disorder following hospitalization for a manic or mixed episode. *American Journal of Psychiatry*, *155*(5), 646-652.https://doi.org/10.1176/ajp.155.5.646

Ketter TA, Houston JP, Adams DH, et al. Differential efficacy of olanzapine and lithium in preventing manic or mixed recurrence inpatients with bipolar I disorder based on number of

previous manic or mixed episodes. J Clin Psychiatry. 2006;67(1):95–101.

Kilbourne, A. M., Cornelius, J. R., Han, X., Pincus, H. A., Shad, M., Salloum, I., ... & Haas, G. L. (2004). Burden of general medical conditions among individuals with bipolar disorder. *Bipolar disorders*, *6*(5), 368-373.https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2004.00138.x

Kim, Y.-K., Jung, H.-G., Myint, A.-M., Kim, H., and Park, S.-H. (2007). Imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in bipolar disorder. *J. Affect. Disord*. 104, 91–95. https://doi:10.1016/j.jad.2007.02.018

Kim, H. K., Chen, W., & Andreazza, A. C. (2015). The potential role of the NLRP3 inflammasome as a link between mitochondrial complex I dysfunction and inflammation in bipolar disorder. *Neural plasticity*, *2015*. https://doi.org/10.1155/2015/408136

Kim, H. K., Andreazza, A. C., Elmi, N., Chen, W., & Young, L. T. (2016). Nod-like receptor pyrin containing 3 (NLRP3) in the post-mortem frontal cortex from patients with bipolar disorder: a potential mediator between mitochondria and immune-activation. *Journal of psychiatric research*, *72*, 43-50. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.10.015

Kim, Y., Vadodaria, K. C., Lenkei, Z., Kato, T., Gage, F. H., Marchetto, M. C., & Santos, R. (2019). Mitochondria, metabolism, and redox mechanisms in psychiatric disorders. *Antioxidants & redox signaling*, *31*(4), 275-317. https://doi:10.1089/ars.2018.7606.

Koopman, W. J., Nijtmans, L. G., Dieteren, C. E., Roestenberg, P., Valsecchi, F., Smeitink, J. A., & Willems, P. H. (2010). Mammalian mitochondrial complex I: biogenesis, regulation, and reactive oxygen species generation. *Antioxidants & redox signaling*, *12*(12), 1431-1470. https://doi.org/10.1089/ars.2009.2743

Kopp, B., Rösser, N., Tabeling, S., Stürenburg, H. J., de Haan, B., Karnath, H. O., & Wessel, K. (2013). Performance on the Frontal Assessment Battery is sensitive to frontal lobe damage in stroke patients. *BMC neurology*, *13*(1), 1-10.https://doi.org/10.1186 / 1471-2377-13-179

Krishnamurthy, P., and Wadhwani, A. (2012). Antioxidant enzymes and human health. Antioxidant enzyme. *InTech* https://doi:10.5772/48109

Kumamaru, E., Numakawa, T., Adachi, N., Yagasaki, Y., Izumi, A., Niyaz, M., ... & Kunugi, H. (2008). Glucocorticoid prevents brain-derived neurotrophic factor-mediated maturation of synaptic function in developing hippocampal neurons through reduction in the activity of mitogen-activated protein kinase. *Molecular Endocrinology*, *22*(3), 546-558. https://doi.org/10.1210/me.2007-0264

Kunz, M., Gama, C. S., Andreazza, A. C., Salvador, M., Ceresér, K. M., Gomes, F. A., ... & Kapczinski, F. (2008). Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *32*(7), 1677-1681. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.07.001

Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr. J*. 15:71. https://doi:10.1186/s12937-016-0186-5

Laaksonen, D. E., Lakka, H. M., Niskanen, L. K., Kaplan, G. A., Salonen, J. T., & Lakka, T. A. (2002). Metabolic syndrome and development of diabetes mellitus: application and validation of recently suggested definitions of the metabolic syndrome in a prospective cohort study. *American journal of epidemiology*, *156*(11), 1070-1077. https://doi.org/10.1093/aje/kwf145

Labrie, V., Pai, S., and Petronis, A. (2012). Epigenetics of major psychosis: progress, problems and perspectives. *Trends Genet*. 28, 427–435. https://doi:10.1016/j.tig.2012.04.002

Lacroix, A. (2019). Glucocorticoid Effects on the Nervous System and Behavior. https://www.uptodate.com/contents/glucocorticoideffects-on-the-nervous-system-and-behavior

Lakka, H. M., Laaksonen, D. E., Lakka, T. A., Niskanen, L. K., Kumpusalo, E., Tuomilehto, J., & Salonen, J. T. (2002). The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *Jama*, *288*(21), 2709-2716. https://doi:10.1001/jama.288.21.2709

Lamers, F., Vogelzangs, N., Merikangas, K. R., De Jonge, P., Beekman, A. T. F., & Penninx, B. W. J. H. (2013). Evidence for a differential role of HPA-axis function, inflammation and metabolic syndrome in melancholic versus atypical depression. *Molecular psychiatry*, *18*(6), 692-699. https://doi.org/10.1038/mp.2012.144

Lasser, K., Boyd, J. W., Woolhandler, S., Himmelstein, D. U., McCormick, D., & Bor, D. H. (2000). Smoking and mental illness: a population-based prevalence study. *Jama*, *284*(20), 2606-2610. https://doi:10.100/jama.284.20.2606

Lazzarino, G., Amorini, A. M., Signoretti, S., Musumeci, G., Lazzarino, G., Caruso, G., et al. (2019). Pyruvate dehydrogenase and tricarboxylic acid cycle enzymes are sensitive targets of traumatic brain injury induced metabolic derangement. Int. J. Mol. Sci. 20:5774. https://doi:10.3390/ijms20225774

Léda-Rêgo, G., Bezerra-Filho, S., & Miranda-Scippa, Â. (2020). Functioning in euthymic patients with bipolar disorder: A systematic review and meta-analysis using the Functioning Assessment Short Test. *Bipolar disorders*, *22*(6), 569-581. https://doi.org/10.1111/bdi.12904

Lee, J. H., Byun, M. S., Sohn, B. K., Choe, Y. M., Yi, D., Han, J. Y., ... & Lee, D. Y. (2015a). Functional neuroanatomical correlates of the frontal assessment battery performance in Alzheimer disease: a FDG-PET study. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, *28*(3), 184-192. https://doi.org/10.1177/0891988715573533

Lee, S., Zhang, H., and Webb, D. (2015b). Dendritic spine morphology and dynamics in health anddisease. *Cell Health Cytoskeleton* 7, 121–131. https://doi:10.2147/CHC.S82214

Leonard, B. E. (2010). The concept of depression as a dysfunction of the immune system. In *Depression: From Psychopathology to Pharmacotherapy* (Vol. 27, pp. 53-71). Karger Publishers. https://doi.org/10.1159/000319504

Lewandowski, K. E., Cohen, B. M., Keshavan, M. S., Sperry, S. H., & Öngür, D. (2013). Neuropsychological functioning predicts community outcomes in affective and non-affective psychoses: a 6-month follow-up. *Schizophrenia research*, *148*(1-3), 34-37. https://doi.org/10.1016 / j.schres.2013.05.012

Lima, C. F., Meireles, L. P., Fonseca, R., Castro, S. L., & Garrett, C. (2008). The Frontal Assessment Battery (FAB) in Parkinson's disease and correlations with formal measures of executive functioning. *Journal of neurology*, *255*(11), 1756-1761. https://doi.org/10.1007 / s00415-008-0024-6

Liu, C.-Y., Wang, X., Liu, C., and Zhang, H.-L. (2019). Pharmacological targeting of microglial activation: new therapeutic approach. *Front. Cell. Neurosci*.13:514. https://doi:10.3389/fncel.2019.00514

Liu, D., Tang, Q. Q., Wang, D., Song, S. P., Yang, X. N., Hu, S. W., ... & Cao, J. L. (2020). Mesocortical BDNF signaling mediates antidepressive-like effects of lithium. *Neuropsycho pharmacology*, *45*(9), 1557-1566. https://doi:10.1038/s41386-020-0713-0

Lomastro, M. J., Valerio, M. P., Szmulewicz, A. G., &Martino, D. J. (2021). Manic morbidity and executive function impairment as determinants of long-term psychosocial dysfunction in bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. https://doi.org/10.1111/acps.1330.

López-Jaramillo, C., Lopera-Vásquez, J., Ospina-Duque, J., García, J., Gallo, A., Cortez, V., ... & Vieta, E. (2010). Lithium treatment effects on the neuropsychological functioning of patients

with bipolar I disorder. *The Journal of clinical psychiatry*, *71*(8), 0-0.

López-Larson, M. P., DelBello, M. P., Zimmerman, M. E., Schwiers, M. L., & Strakowski, S. M. (2002). Regional prefrontal gray and white matter abnormalities in bipolar disorder. *Biological psychiatry*, *52*(2), 93-100. https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01350-1

Lorgis, L., Amoureux, S., De Maistre, E., Sicard, P., Bejot, Y., Zeller, M., ... & Rochette, L. (2010). Serum brain-derived neurotrophic factor and platelet activation evaluated by soluble P-selectin and soluble CD-40-ligand in patients with acute myocardial infarction. *Fundamental & clinical pharmacology*, *24*(4), 525-530. https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2009.00790.x

Louveau, A., Smirnov, I., Keyes, T. J., Eccles, J. D., Rouhani, S. J., Peske, J. D., ... & Kipnis, J. (2015). Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*, *523*(7560), 337-341. https://doi.org/10.1038/nature14432

Luo, Y., He, H., Zhang, M., Huang, X., and Fan, H. (2016). Altered serum levels of TNF-a, IL-6 and IL-18 in manic, depressive, mixed state of bipolar disorder patients. *Psychiatry Res.* 244, 19–23. https://doi:10.1016/j.psychres.2016.07.027

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, *224*, 164-175. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016

Machado, L. P., Kohayagawa, A., Saito, M. E., da Silveira, V. F., & Yonezawa, L. A. (2009). Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse na Medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, *8*(1), 84-94.

Machado-Vieira, R., Andreazza, A. C., Viale, C. I., Zanatto, V., Cereser Jr, V., da Silva Vargas, R., ... & Gentil, V. (2007a). Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neuroscience letters*, *421*(1), 33-36. https://doi:10.1016/j.neulet.2007.05.016

Machado-Vieira, R., Dietrich, M. O., Leke, R., Cereser, V. H., Zanatto, V., Kapczinski, F., ... & Gentil, V. (2007b). Decreased plasma brain derived neurotrophic factor levels in unmedicated bipolar patients during manic episode. *Biological psychiatry*, *61*(2), 142-144. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.070

Machado-Vieira, R., Zanetti, M. V., De Sousa, R. T., Soeiro-De-Souza, M. G., Moreno, R. A., Busatto, G. F., & Gattaz, W. F. (2014). Lithium efficacy in bipolar depression with flexible dosing: A six-week, open-label, proof-of-concept study. *Experimental and therapeutic*

medicine, *8*(4), 1205-1208. https://doi.org/10.3892/etm.2014.1864

Mackin, P., Gallagher, P., Watson, S., Young, A. H., & Nicol Ferrier, I. (2007). Changes in brain-derived neurotrophic factor following treatment with mifepristone in bipolar disorder and schizophrenia. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, *41*(4), 321-326. https://doi.org/10.1080/00048670701213211

Maes, M., Ruckoanich, P., Chang, Y. S., Mahanonda, N., & Berk, M. (2011). Multiple aberrations in shared inflammatory and oxidative & nitrosative stress (IO&NS) pathways explain the co-association of depression and cardiovascular disorder (CVD), and the increased risk for CVD and due mortality in depressed patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *35*(3), 769-783. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.06.008

Magalhães, P. V., Jansen, K., Pinheiro, R. T., Klamt, F., Teixeira, A. L., da Silva, R. A., & Kapczinski, F. (2011). Systemic toxicity in early-stage mood disorders. *Journal of psychiatric research*, *45*(10), 1407-1409. https://doi.org/10.1016 / j.jpsychires.2011.05.008

Magalhães, P. V. S., Fries, G. R., and Kapczinski, F. (2012a). Peripheral markers and the pathophysiology of bipolar disorder. *Rev. Psiquiatr. Clín*. 39, 60–67. https://doi:10.1590/S0101-60832012000200004

Magalhães, P. V., Jansen, K., Pinheiro, R. T., Colpo, G. D., da Motta, L. L., Klamt, F., ... & Kapczinski, F. (2012b). Peripheral oxidative damage in early-stage mood disorders: a nested population-based case-control study. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *15*(8), 1043-1050. https://doi.org/10.1017/S1461145711001532

Mansur, R. B., Rizzo, L. B., Santos, C. M., Asevedo, E., Cunha, G. R., Noto, M. N., ... & Brietzke, E. (2016a). Bipolar disorder course, impaired glucose metabolism and antioxidant enzymes activities: A preliminary report. *Journal of psychiatric research*, *80*, 38-44. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.05.014

Mansur, R. B., Santos, C. M., Rizzo, L. B., Cunha, G. R., Asevedo, E., Noto, M. N., ... & Brietzke, E. (2016b). Inter-relation between brain-derived neurotrophic factor and antioxidant enzymes in bipolar disorder. *Bipolar disorders*, *18*(5), 433-439. https://doi.org/10.1111/bdi.12418

Marini, A. M., Jiang, X., Wu, X., Pan, H., Guo, Z., Mattson, M. P., ... & Lipsky, R. H. (2007). Preconditioning and neurotrophins: a model for brain adaptation to seizures, ischemia and other stressful stimuli. *Amino Acids*, *32*(3), 299-304. https://doi.org/10.1007/s00726-006-0414-y

Marklund, S. L. (1985). Product of extracellular-superoxide dismutase catalysis. *FEBS letters*, *184*(2), 237-239. https://doi.org/10.1016/0014-5793(85)80613-X

Marques, A. P., Resende, R., Silva, D. F., Batista, M., Pereira, D., Wildenberg, B., ... & Pereira, C. F. (2021). Mitochondrial Alterations in Fibroblasts of Early Stage Bipolar Disorder Patients. *Biomedicines*, 9(5), 522. https://doi.org/10.3390/biomedicines9050522

Martínez-Arán, A., Vieta, E., Reinares, M., Colom, F., Torrent, C., Sánchez-Moreno, J., ... & Salamero, M. (2004a). Cognitive function across manic or hypomanic, depressed, and euthymic states in bipolar disorder. *American Journal of Psychiatry*, *161*(2), 262-270. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.2.262

Martínez-Arán, A., Vieta, E., Colom, F., Torrent, C., Sánchez-Moreno, J., Reinares, M., ... & Salamero, M. (2004b). Cognitive impairment in euthymic bipolar patients: implications for clinical and functional outcome. *Bipolar disorders*, *6*(3), 224-232. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2004.00111.x

Martínez-Arán, A., Vieta, E., Torrent, C., Sanchez-Moreno, J., Goikolea, J. M., Salamero, M., ... & Ayuso-Mateos, J. L. (2007). Functional outcome in bipolar disorder: the role of clinical and cognitive factors. *Bipolar disorders*, *9*(1-2), 103-113. https://doi:10.1111/j.1399-5618.2007.00327.x.

Martino, D. J., Marengo, E., Igoa, A., Scápola, M., Ais, E. D., Perinot, L., & Strejilevich, S. A. (2009). Neurocognitive and symptomatic predictors of functional outcome in bipolar disorders: a prospective 1 year follow-up study. *Journal of affective disorders*, *116*(1-2), 37-42. https://doi:10.1016/j.jad.2008.10.023

Matsumoto, T., Rauskolb, S., Polack, M., Klose, J., Kolbeck, R., Korte, M., & Barde, Y. A. (2008). Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF. *Nature neuroscience*, *11*(2), 131-133. https://doi.org/10.1038/nn2038

Maurer, I. C., Schippel, P., & Volz, H. P. (2009). Lithium-induced enhancement of mitochondrial oxidative phosphorylation in human brain tissue. *Bipolar isorders*, *11*(5), 515-522. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2009.00729.x

McEwen, B. S. (2000). Allostasis and allostatic load implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology* 22, 108–124. https://doi:10.1016/S0893-133X(99)00129-3

McEwen, B. S., & Gianaros, P. J. (2011). Stress and allostasis-induced brain plasticity. *Annual review of medicine*, *62*, 431-445. https://doi:10.1146/annurev-med-052209-100430

McEwen, B. S. (2017). Neurobiological and systemic effects of chronic stress. Chronic Stress 1:2470547017692328. https://doi:10.1177/2470547017692328

McIntyre, R. S., Danilewitz, M., Liauw, S. S., Kemp, D. E., Nguyen, H. T., Kahn, L. S., ... & Taylor, V. H. (2010). Bipolar disorder and metabolic syndrome: an international perspective. *Journal of affective disorders*, *126*(3), 366-387. https://doi.org/10.1016/j.jad.2010.04.012

Micó, J. A., Rojas-Corrales, M. O., Gibert-Rahola, J., Parellada, M., Moreno, D., Fraguas, D., ... & González-Pinto, A. (2014). Reduced antioxidant defense in early onset first-episode psychosis: a case-control study. *BMC psychiatry*, *11*(1), 1-8. https://doi.org/10.1186/1471-244X-11-26

Miklowitz, D. J., & Scott, J. (2009). Psychosocial treatments for bipolar disorder: Cost-effectiveness, mediating mechanisms, and future directions. *Bipolar disorders*, *11*, 110-122. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2009.00715.x

Milan-Mattos, J. C., Anibal, F. F., Perseguini, N. M., Minatel, V., Rehder-Santos, P., Castro, C. A., et al. (2019). Effects of natural aging and gender on pro-inflammatory markers. *Br. J. Med. Biol. Res.* 52:e8392. https://doi:10.1590/1414-431X20198392

Milenkovic, D., Blaza, J. N., Larsson, N. G., & Hirst, J. (2017). The enigma of the respiratory chain supercomplex. *Cell metabolism*, *25*(4), 765-776. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.03.009

Miller, A. H., Maletic, V., & Raison, C. L. (2009). Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biological psychiatry*, *65*(9), 732-741. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.11.029

Miller, B. L., & Cummings, J. L. (Eds.). (2017). The human frontal lobes: Functions and disorders. Guilford Publications. ISBN 978146253183

Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & redox signaling*, *20*(7), 1126-1167. https://doi:10.1089/ars.2012.5149

Miyake, A., Friedman, N. P., Emerson, M. J., Witzki, A. H., Howerter, A., & Wager, T. D. (2000). The unity and diversity of executive functions and their contributions to complex "frontal lobe" tasks: A latent variable analysis. *Cognitive psychology*, *41*(1), 49-100. https://doi.org/10.1006/cogp.1999.0734

Modabbernia, A., Taslimi, S., Brietzke, E., and Ashrafi, M. (2013). Cytokine alterations in bipolar disorder: a meta-analysis of 30 studies. *Biol. Psychiatry* 74, 15–25. https://doi:10.1016/j.biopsych.2013.01.007

Momtazmanesh, S., Zare-Shahabadi, A., and Rezaei, N. (2019). Cytokine alterations in schizophrenia: an updated review. *Front. Psychiatry* 10:892. https://doi:10.3389/fpsyt.2019.00892

Mondin, T. C., de Azevedo Cardoso, T., Moreira, F. P., Wiener, C., Oses, J. P., de Mattos Souza, L. D., ... & da Silva, R. A. (2016). Circadian preferences, oxidative stress and inflammatory cytokines in bipolar disorder: a community study. *Journal of neuroimmunology*, *301*, 23-29. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.10.012

Moniczewski, A., Gawlik, M., Smaga, I., Niedzielska, E., Krzek, J., Przegaliński, E., ... & Filip, M. (2015). Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 1. Chemical aspects and biological sources of oxidative stress in the brain. *Pharmacological Reports*, *67*(3), 560-568. https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.12.014

Monteleone, P., Serritella, C., Martiadis, V., & Maj, M. (2008). Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in both depressed and euthymic patients with unipolar depression and in euthymic patients with bipolar I and II disorders. *Bipolar disorders*, *10*(1), 95-100. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2008.00459.x

Moreira, A. L. R., Van Meter, A., Genzlinger, J., & Youngstrom, E. A. (2017a). Review and meta-analysis of epidemiologic studies of adult bipolar disorder. *J. Clin. Psychiatry* 78, 1259–1269. https://doi:10.4088/JCP.16r11165

Moreira, H. S., Costa, A. S., Castro, S. L., Lima, C. F., & Vicente, S. G. (2017). Assessing executive dysfunction in neurodegenerative disorders: a critical review of brief neuropsychological tools. *Frontiers in aging neuroscience*, *9*, 369. https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00369

Morón, J. A., Zakharova, I., Ferrer, J. V., Merrill, G. A., Hope, B., Lafer, E. M., ... & Shippenberg, T. S. (2003). Mitogen-activated protein kinase regulates dopamine transporter surface expression and dopamine transport capacity. *Journal of neuroscience*, *23*(24), 8480-8488. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-24-08480.2003

Müller, N., & Schwarz, M. J. (2007). The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression. *Molecular psychiatry*, *12*(11), 988-1000. https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002006

Muneer, A. (2016). Bipolar disorder: role of inflammation and the development of disease biomarkers. *Psychiatry Invest*. 13, 18–33. https://doi:10.4306/pi.2016.13.1.18

Munkholm, K., Peijs, L., Vinberg, M., & Kessing, L. V. (2015). A composite peripheral blood gene expression measure as a potential diagnostic biomarker in bipolar disorder. *Translational psychiatry*, 5(8), e614-e614. https://doi.org/10.1038/tp.2015.110

Munkholm K, Vinberg M, Kessing LV. (2016) Peripheral blood brain-derived neurotrophic factor in bipolar disorder: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 21 (2), 216-28. https://doi:10.1038/mp.2015.54.

Mur, M., Portella, M. J., Martinez-Aran, A., Pifarre, J., & Vieta, E. (2009). Influence of clinical and neuropsychological variables on the psychosocial and occupational outcome of remitted bipolar patients. *Psychopathology*, *42*(3), 148-156. https://doi.org/10.1159/000207456

Murer, M. G., Yan, Q., & Raisman-Vozari, R. (2001). Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Progress in neurobiology*, *63*(1), 71-124. https://doi.org/10.1016/S0301-0082(00)00014-9

Murray, D. P., Weiner, M., Prabhakar, M., & Fiedorowicz, J. G. (2009). Mania and mortality: why the excess cardiovascular risk in bipolar disorder?. *Current psychiatry reports*, *11*(6), 475. https://doi.org/10.1007/s11920-009-0072-3

Murri, M. B., Prestia, D., Mondelli, V., Pariante, C., Patti, S., Olivieri, B., ... & Amore, M. (2016). The HPA axis in bipolar disorder: systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, *63*, 327-342. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.10.014

Myint, A. M., Kim, Y. K., Verkerk, R., Scharpé, S., Steinbusch, H., & Leonard, B. (2007). Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection. *Journal of affective disorders*, 98(1-2), 143-151. https://doi.org/10.1016/j.jad.2006.07.013

Mwangi, B., Wu, MJ, Cao, B., Passos, IC, Lavagnino, L., Keser, Z., ... & Soares, JC (2016). Individualized prediction and clinical staging of bipolar disorders using neuroanatomical biomarkers. *Biological psychiatry: cognitive neuroscience and neuroimaging*, *1* (2), 186-194. https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2016.01.001

Nagata, T., Shinagawa, S., Ochiai, Y., Aoki, R., Kasahara, H., Nukariya, K., & Nakayama, K. (2011). Association between executive dysfunction and hippocampal volume in Alzheimer's

disease. *International Psychogeriatrics*, *23*(5), 764. https://doi.org/10.1017 / S1041610210002164

Newcomer, J. W. (2009). Comparing the safety and efficacy of atypical antipsychotics in psychiatric patients with comorbid medical illnesses. *Journal of Clinical Psychiatry*, *70* (suppl 3), 30-36.

Newton, D.F., Naiberg, M.R., Andreazza, A.C. *et al.* (2017). Association of Lipid Peroxidation and Brain-Derived Neurotrophic Factor with Executive Function in Adolescent Bipolar Disorder. *Psychopharmacology* **234,** 647–656. https://doi.org/10.1007/s00213-016-4500-x

Noble P.B., & Cutts J.H. (1967). Separation of blood leukocytes by Ficoll gradient. *Can. Vet. J.* 8,110–111. [PubMed: 6046425]

Nucifora, L. G., Tanaka, T., Hayes, L. N., Kim, M., Lee, B. J., Matsuda, T., ... & Sawa, A. (2017). Reduction of plasma glutathione in psychosis associated with schizophrenia and bipolar disorder in translational psychiatry. *Translational psychiatry*, *7*(8), e1215-e1215. https://doi.org/10.1038/tp.2017.178

O'Donovan, C., & Alda, M. (2020). Depression preceding diagnosis of bipolar disorder. *Frontiers in psychiatry*, *11*, 500. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.00500

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, *95*(2), 351-358. https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3

Olmez, I., & Ozyurt, H. (2012). Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease. *Neurochemistry international*, *60*(2), 208-212. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.11.009

Orhan, M., Korten, N., Kupka, R., van Oppen, P., Stek, M., Vieta, E., ... & Dols, A. (2020). Reliability and validity of the functioning assessment short test for older adults with bipolar disorder (FAST-O). *International Journal of Bipolar Disorders*, *8*(1), 1-7. https://doi.org/10.1186/s40345-020-00193-2

Orellana, G., & Slachevsky, A. (2013). Executive functioning in schizophrenia. *Frontiers in Psychiatry*, 4, 35. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2013.00035

Orrenius, S., Gogvadze, V., & Zhivotovsky, B. (2007). Mitochondrial oxidative stress: implications for cell death. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, *47*, 143-183. https://doi.org/10..1146/annurev.pharmtox.47.120505.105122

Oshima, E., Terada, S., Sato, S., Ikeda, C., Nagao, S., Takeda, N., ... & Uchitomi, Y. (2012). Frontal assessment battery and brain perfusion imaging in Alzheimer's disease. *International psychogeriatrics*, *24*(6), 994. https://doi.org/10.1017/S1041610211002481

Osuji, I. J., & Cullum, C. M. (2005). Cognition in bipolardisorder. *Psychiatric Clinics*, *28*(2), 427-441. https://doi.org/10.1186/s12991-015-0080-0

Otsuki K, Uchida S, Watanuki T, Wakabayashi Y, Fujimoto M, Matsubara T, Funato H, Watanabe Y. (2008). Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. *J Psychiat Res*., 42, 1145–1153.

Palomino, A., Vallejo-Illarramendi, A., González-Pinto, A., Aldama, A., González-Gómez, C., Mosquera, F., ... & Matute, C. (2006). Decreased levels of plasma BDNF in first-episode schizophrenia and bipolar disorder patients. *Schizophrenia research*, *86*(1-3), 321-32 https://doi.org/10.1002/hup.804

Panizzutti, B., Gubert, C., Schuh, A. L., Ferrari, P., Bristot, G., Fries, G. R., ... & Gama, C. S. (2015). Increased serum levels of eotaxin/CCL11 in late-stage patients with bipolar disorder: An accelerated aging biomarker?. *Journal of affective disorders*, *182*, 64-69. https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.12.010

Parsons, B., Allison, D. B., Loebel, A., Williams, K., Giller, E., Romano, S., & Siu, C. (2009). Weight effects associated with antipsychotics: a comprehensive database analysis. *Schizophrenia research*, *110*(1-3), 103-110. https://doi.org/10.1016/j.schres.2008.09.025

Passos, I. C., Mwangi, B., Vieta, E., Berk, M., & Kapczinski, F. (2016). Areas of controversy in neuroprogression in bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 134(2), 91-103. https://doi.org/10.1111/acps.12581

Patel, J. P., & Frey, B. N. (2015). Disruption in the blood-brain barrier: the missing link between brain and body inflammation in bipolar disorder?. *Neural plasticity*, 2015. https://doi.org/10.1155/2015/708306

Patki, G., Solanki, N., Atrooz, F., Allam, F., & Salim, S. (2013). Depression, anxiety-like behavior and memory impairment are associated with increased oxidative stress and inflammation in a rat model of social stress. *Brain research*, *1539*, 73-86. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.09.033

Paul, P., Iyer, S., Nadella, R. K., Nayak, R., Chellappa, A. S., Ambardar, S., ... & Viswanath, B. (2020). Lithium response in bipolar disorder correlates with improved cell viability of patient derived cell lines. *Scientific reports*, *10*(1), 1-10. https://doi.org/10.1038/s41598-020-64202-1

Paviour, D. C., Winterburn, D., Simmonds, S., Burgess, G., Wilkinson, L., Fox, N. C., ... & Jahanshahi, M. (2005). Can the frontal assessment battery (FAB) differentiate bradykinetic rigid syndromes? Relation of the FAB to formal neuropsychological testing. *Neurocase*, *11*(4), 274-282. https://doi.org/10.1080 / 13554790590962933

Pawluk, H., Woz´ niak, A., Grze ´sk, G., Koodziejska, R., Kozakiewicz, M.; Kopkowska, E., et al. (2020). The role of selected pro-inflammatory cytokines in pathogenesis of ischemic stroke. *Clin. Interv. Aging* 15, 469–484. https://doi:10.2147/CIA.S233909

Pellecchia, M. T., Picillo, M., Santangelo, G., Longo, K., Moccia, M., Erro, R., ... & Pappata, S. (2015). Cognitive performances and DAT imaging in early Parkinson's disease with mild cognitive impairment: a preliminary study. *Acta Neurologica Scandinavica*, *131*(5), 275-281. https://doi.org/10.1111/ane.12365

Pfaffenseller, B., Gama, C. S., Kapczinski, F., Duarte, J. A., & Kunz, M. (2012). Anatomical faces of neuroprogression in bipolar disorder. *Neuropsychiatry*, *2*(4), 279. https://www.researchgate.net/profile/Juliana-Duarte-2/publication/273054194

Pfaffenseller, B., Fries, G. R., Wollenhaupt-Aguiar, B., Colpo, G. D., Stertz, L., Panizzutti, B., et al. (2013). Neurotrophins, inflammation and oxidative stress as illness activity biomarkers in bipolar disorder. *Expert Rev. Neurother*. 13, 827–842. https://doi:10.1586/14737175.2013.811981

Post, R. M. (2007). Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: clinical and theoretical implications. *Journal of psychiatric research*, *41*(12), 979-990. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.09.009

Post, R. M. (2020). How to prevent the malignant progression of bipolar disorder. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 42(5), 552-557. https://doi.org/10.1590/1516-4446-2020-0874

Power, J. D., Cohen, A. L., Nelson, S. M., Wig, G. S., Barnes, K. A., Church, J. A., & Petersen, S. E. (2011).Functional network organization of the human brain.Neuron, 72(4), 665-678. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.006

Prabakaran, S., Swatton, J., Ryan, M., Huffaker, S. J., Huang, J. T.-J., Griffin, J. L., et al. (2004). Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. Mol. Psychiatry 9, 684–697.

https://doi:10.1038/sj.mp.4001511

Price, A. L., & Marzani-Nissen, G. R. (2012). Bipolar disorders: a review. *American family physician*, *85*(5), 483-493. PMID:22534227

Qian, L., Zhao, J., Shi, Y., Zhao, X., Feng, G., Xu, F., ... & He, L. (2007). Brain-derived neurotrophic factor and risk of schizophrenia: an association study and meta-analysis. *Biochemical and biophysical research communications*, *353*(3), 738-743. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.12.121

Rabasa, C., Gagliano, H., Pastor-Ciurana, J., Fuentes, S., Belda, X., Nadal, R., & Armario, A. (2015). Adaptation of the hypothalamus–pituitary–adrenal axis to daily repeated stress does not follow the rules of habituation: A new perspective. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *56*, 35-49. https://doi:10.1016/j.neubiorev.2015.06.013

Raffa, M., Barhoumi, S., Atig, F., Fendri, C., Kerkeni, A., & Mechri, A. (2012). Reduced antioxidant defense systems in schizophrenia and bipolar I disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *39*(2), 371-375. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.07.013

Rai, S., Kamat, P. K., Nath, C., & Shukla, R. (2013). A study on neuroinflammation and NMDA receptor function in STZ (ICV) induced memory impaired rats. *Journal of neuroimmunology*, *254*(1-2), 1-9. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2012.08.008

Rajkowska, G., Legutko, B., Moulana, M., Syed, M., Romero, D. G., Stockmeier, C. A., & Miguel-Hidalgo, J. J. (2018). Astrocyte pathology in the ventral prefrontal white matter in depression. *Journal of psychiatric research*, *102*, 150-158. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.04.005.

Ranjekar, P. K., Hinge, A., Hegde, M. V., Ghate, M., Kale, A., Sitasawad, S., ... & Mahadik, S. P. (2003). Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry research*, *121*(2), 109-122. https://doi.org/10.1016/S0165-1781(03)00220-8

Rao, J. S., Harry, G. J., Rapoport, S. I., and Kim, H. W. (2010). Increased excitotoxicity and neuroinflammatory markers in post-mortem frontal cortex from bipolar disorder patients. *Mol. Psychiatry* 15, 384–392. https://doi:10.1038/mp.2009.47

Ray, M. T., Weickert, C. S., Wyatt, E., & Webster, M. J. (2011). Decreased BDNF, trkB-TK+ and GAD67 mRNA expression in the hippocampus of individuals with schizophrenia and mood disorders. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*, *36*(3), 195. 10.1503 / jpn.100048

Reichenberg, A., Harvey, P. D., Bowie, C. R., Mojtabai, R., Rabinowitz, J., Heaton, R. K., & Bromet, E. (2009). Neuropsychological function and dysfunction in schizophrenia and psychotic affective disorders. *Schizophrenia bulletin*, *35*(5), 1022-1029. https://doi.org/10.1093 / schbul / sbn044

Remlinger-Molenda, A., Wojciak, P., Michalak, M., Karczewski, J., & Rybakowski, J. K. (2012). selected cytokine profiles during remission in bipolar patients. *Neuropsychobiology*, *66*(3), 193-198. http://dx.doi.org/10.1159/000339949

Réus, G. Z., Fries, G. R., Stertz, L., Badawy, M., Passos, I. C., Barichello, T., et al. (2015). The role of inflammation and microglial activation in the pathophysiology of psychiatric disorders. *Neuroscienc*e 300, 141–154. https://doi:10.1016/j.neuroscience.2015.05.018

Reynolds, A., Laurie, C., Mosley, R. L., and Gendelman, H. E. (2007). Oxidative stress and the pathogenesis of neurodegenerative disorders. *Int. Rev. Neurobiol.* 82, 297–325. https://doi:10.1016/S0074-7742(07)82016-2

Rezin, G. T., Cardoso, M. R., Gonçalves, C. L., Scaini, G., Fraga, D. B., Riegel, R. E., ... &

Rios, J. L. (2014). Geart Rate Variability and Allostasis in Individuals with Depression and Anxiety Symptoms. Northridge: California State University

Robinson, L. J., & Nicol Ferrier, I. (2006). Evolution of cognitive impairment in bipolar disorder: a systematic review of cross-sectional evidence. *Bipolar disorders*, *8*(2), 103-116. https://doi:10.1111/j.1399-5618.2006.00277.x.

Roceri, M., Hendriks, W. J. A. J., Racagni, G., Ellenbroek, B. A., & Riva, M. A. (2002). Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Molecular psychiatry*, *7*(6), 609-616. https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001036

Roceri, M., Cirulli, F., Pessina, C., Peretto, P., Racagni, G., & Riva, M. A. (2004). Postnatal repeated maternal deprivation produces age-dependent changes of brain-derived neurotrophic factor expression in selected rat brain regions. *Biological psychiatry*, *55*(7), 708-714. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2003.12.011

Rosa, A. R., Frey, B. N., Andreazza, A. C., Ceresér, K. M., Cunha, A. B., Quevedo, J., ... & Kapczinski, F. (2006). Increased serum glial cell line-derived neurotrophic factor immunocontent during manic and depressive episodes in individuals with bipolar disorder. *Neuroscience letters*, *407*(2), 146-150. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.08.026

Rosa, A. R., Sánchez-Moreno, J., Martínez-Aran, A., Salamero, M., Torrent, C., Reinares, M.,

... & Vieta, E. (2007). Validity and reliability of the Functioning Assessment Short Test (FAST) in bipolar disorder. *Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health*, *3*(1), 1-8. https://doi:10.1186/1745-0179-3-5

Rosa, A. R., Reinares, M., Franco, C., Comes, M., Torrent, C., Sánchez-Moreno, J., ... & Vieta, E. (2009). Clinical predictors of functional outcome of bipolar patients in remission. *Bipolar Disorders*, *11*(4), 401-409. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2009.00698.x

Rosa, A. R., Reinares, M., Michalak, E. E., Bonnin, C. M., Sole, B., Franco, C., ... & Vieta, E. (2010). Functional impairment and disability across mood states in bipolar disorder. *Value in health*, *13*(8), 984-988. https://doi.org/10. 1111/j.1524-4733.2010.00768.x.

Rowland, T., Perry, B. I., Upthegrove, R., Barnes, N., Chatterjee, J., Gallacher, D., et al. (2018). Neurotrophins, cytokines, oxidative stress mediators and mood state in bipolar disorder: systematic review and meta-analyses. *Br. J. Psychiatry* 213, 514–525. https://doi:10.1192/bjp.2018.144

Rybakowski, J. K., Borkowska, A., Czerski, P. M., Skibińska, M., & Hauser, J. (2003). Polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene and performance on a cognitive prefrontal test in bipolar patients. *Bipolar disorders*, *5*(6), 468-472. https://doi.org/10.1046/j.1399-5618.2003.00071.x

Rybakowski, J. K., Remlinger-Molenda, A., Czech-Kucharska, A., Wojcicka, M., Michalak, M., & Losy, J. (2013). Increased serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) levels in young patients during bipolar depression. *Journal of affective disorders*, *146*(2), 286-289. https://doi.org/10.1016/j.jad.2012.07.019

Salim, S., Asghar, M., Taneja, M., Hovatta, I., Wu, Y. L., Saha, K., ... & Hite, B. (2011). Novel role of RGS2 in regulation of antioxidant homeostasis in neuronal cells. *FEBS letters*, *585*(9), 1375-1381. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.04.023

Salim, S. (2017). Oxidative stress and the central nervous system. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *360*(1), 201-205. https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503

Salminen, A., Kauppinen, A., Hiltunen, M., and Kaarniranta, K. (2014). Krebs cycle intermediates regulate DNA and histone methylation: epigenetic impact on the aging process. *Ageing Res. Rev.* 16, 45–65. https://doi:10.1016/j.arr.2014.05.00

Salthouse, T. A. (2011). Neuroanatomical substrates of age related cognitive decline. *Psychological bulletin*, *137*(5), 753. https://doi.org/10.1037/a0023262

Salvi, V., D'Ambrosio, V., Rosso, G., Bogetto, F., & Maina, G. (2011). Age-specific prevalence of metabolic syndrome in Italian patients with bipolar disorder. *Psychiatry and clinical neurosciences*, *65*(1), 47-54. https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2010.02160.x

Santos, J. L., Aparicio, A., Bagney, A., Sánchez-Morla, E. M., Rodríguez-Jiménez, R., Mateo, J., & Jiménez-Arriero, M. Á. (2014). A five-year follow-up study of neurocognitive functioning in bipolar disorder. *Bipolar disorders*, *16*(7), 722-731. https://doi.org/10.1111/bdi.12215

Sarabi, A., Hoffer, B. J., Olson, L., & Morales, M. (2000). GFRα-1 is expressed in parvalbumin GABAergic neurons in the hippocampus. *Brain research*, *877*(2), 262-270. https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02682-2

Sarandol, A., Sarandol, E., Acikgoz, H. E., Eker, S. S., Akkaya, C., & Dirican, M. (2015). First-episode psychosis is associated with oxidative stress: effects of short-term antipsychotic treatment. *Psychiatry and clinical neurosciences*, *69*(11), 699-707. https://doi.org/10.1111/pcn.12333

Savas, H. A., Gergerlioglu, H. S., Armutcu, F., Herken, H., Yilmaz, H. R., Kocoglu, E., ... & Akyol, O. (2006). Elevated serum nitric oxide and superoxide dismutase in euthymic bipolar patients: impact of past episodes. *The World Journal of Biological Psychiatry*, *7*(1), 51-55. https://doi.org/10.1080/15622970510029993

Savitz, J., Solms, M., & Ramesar, R. (2005). Neuropsychological dysfunction in bipolar affective disorder: a critical opinion. *Bipolar disorders*, *7*(3), 216-235. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2005.00203.x

Scaini, G., Rezin, G. T., Carvalho, A. F., Streck, E. L., Berk, M., & Quevedo, J. (2016). Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: evidence, pathophysiology and translational implications. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 68, 694–713. https://doi:10.1016/j.neubiorev.2016.06.040

Scaini, G., Fries, G. R., Valvassori, S. S., Zeni, C. P., Zunta-Soares, G., Berk, M., ... & Quevedo, J. (2017). Perturbations in the apoptotic pathway and mitochondrial network dynamics in peripheral blood mononuclear cells from bipolar disorder patients. *Translational psychiatry*, 7(5), e1111-e1111. https://doi.org/10.1038/tp.2017.83

Scaini, G., Barichello, T., Fries, G. R., Kennon, E. A., Andrews, T., Nix, B. R., ... & Quevedo, J. (2019). TSPO upregulation in bipolar disorder and concomitant downregulation of mitophagic proteins and NLRP3 inflammasome activation. *Neuropsychopharmacology*, 44(7),

1291-1299. https://doi.org/10.1038/s41386-018-0293-4

Schloesser, R. J., Huang, J., Klein, P. S., & Manji, H. K. (2008). Cellular plasticity cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 33, 110–133. https://doi:10.1038/sj.npp.1301575

Scola, G., Kim, H. K., Young, L. T., & Andreazza, A. C. (2013). A fresh look at complex I in microarray data: clues to understanding disease-specific mitochondrial alterations in bipolar disorder. *Biological psychiatry*, 73(2), e4-e5. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.06.028

Scott, J., & Leboyer, M. (2011). Consequences of delayed diagnosis of bipolar disorders. *L'encephale*, *37*, S173-S175. https://doi.org/10.1016/S0013-7006(11)70048-3

Selek, S., Savas, H. A., Gergerlioglu, H. S., Bulbul, F., Uz, E., & Yumru, M. (2008). The course of nitric oxide and superoxide dismutase during treatment of bipolar depressive episode. *Journal of affective disorders*, *107*(1-3), 89-94. https://doi.org/10.1016/j.jad.2007.08.006

Selek, S., Altindag, A., Saracoglu, G., & Aksoy, N. (2015). Oxidative markers of myeloperoxidase and catalase and their diagnostic performance in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *181*, 92-95. https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.03.058

Serafini, G., Pardini, M., Monacelli, F., Orso, B., Girtler, N., Brugnolo, A., ... & Nobili, F. (2021). Neuroprogression as an Illness Trajectory in Bipolar Disorder: A Selective Review of the Current Literature. *Brain Sciences*, 11(2), 276. https://doi.org/10.3390/brainsci11020276

Seymen, C., & Elmas, Ç. (2016). The effects of oxidative stress and some of the popular antioxidants on reproductive system: A mini review. *J Nutr Food Sci*, v. 6, n. 2, p. 1-3, 2016.

Sigitova, E., FiLsar, Z., Hroudová, J., Cikánková, T., & Raboch, J. (2017). Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 71,77–103. https://doi:10.1111/pcn.12476

Shi, L., and Tu, B. P. (2015). Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences. Curr. Opin. Cell Biol. 33, 125–131. https://doi:10.1016/j.ceb.2015.02.003

Singh, N., McMahon, H., Bilderbeck, A., Reed, Z. E., Tunbridge, E., Brett, D., ... & Goodwin, G. M. (2019). Plasma glutathione suggests oxidative stress is equally present in early-and late-

onset bipolar disorder. *Bipolar disorders*, *21*(1), 61-67. https://doi.org/10.1111/bdi.12640

Siwek, M., Sowa-Kucma, M., Styczen, K., Misztak, P., Szewczyk, B., Topor-Madry, R., ... & Rybakowski, J. K. (2016). Thiobarbituric acid-reactive substances: markers of an acute episode and a late stage of bipolar disorder. *Neuropsychobiology*, *73*(2), 116-122. https://doi.org/10.1159/000444491

Sneeboer, M. A. M., Snijders, G. J. L. J., Berdowski, W. M., Fernández-Andreu, A., Psychiatric Donor Program of the Netherlands Brain Bank (NBB-Psy), van Mierlo, H.C., et al. (2019). Microglia in post-mortem brain tissue of patients with bipolar disorder are not immune activated. *Transl. Psychiatry* 9:153. https://doi:10.1038/s41398-019-0490-x

Sochocka, M., Diniz, B. S., and Leszek, J. (2017). Inflammatory response in the CNS: friend or foe? *Mol. Neurobiol*. 54, 8071–8089. https://doi:10.1007/s12035-016-0297-1

Solanki, N., Alkadhi, I., Atrooz, F., Patki, G., & Salim, S. (2015). Grape powder prevents cognitive, behavioral, and biochemical impairments in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Nutrition Research*, *35*(1), 65-75. https://doi.org/10.1016/j.nutres.2014.11.008

Solanki, N., Salvi, A., Patki, G., & Salim, S. (2017). A modulação do estresse oxidativo alivia as deficiências comportamentais e cognitivas induzidas pelo estresse em ratos. *The international journal of neuropsychopharmacology*, *20* (7), 550–561. https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx017

Solé, B., Bonnin, C. M., Jiménez, E., Torrent, C., Torres, I., Varo, C., & Reinares, M. (2018). Heterogeneity of functional outcomes in patients with bipolar disorder: a cluster-analytic approach. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *137*(6), 516-527. https://doi.org/10.1111/acps.12871

Soontornniyomkij, B., Everall, I. P., Chana, G., Tsuang, M. T., Achim, C. L., & Soontornniyomkij, V. (2011). Tyrosine kinase B protein expression is reduced in the cerebellum of patients with bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *133*(3), 646-654. https://doi.org/10.1016/j.jad.2011.04.044

Stamelou, M., Diehl-Schmid, J., Hapfelmeier, A., Kontaxopoulou, D., Stefanis, L., Oertel, W. H., ... & Höglinger, G. U. (2015). The frontal assessment batteryis not useful to discriminate progressive supranuclear palsy from frontotemporal dementias. *Parkinsonism & related disorders*, *21*(10), 1264-1268.https://doi.org/10.1016 / j.parkreldis.2015.08.006

Steckert, A. V., Valvassori, S. S., Moretti, M., Dal-Pizzol, F., & Quevedo, J. (2010). Role of oxidative stress in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neurochemical research*, *35*(9),

1295-1301. https://doi.org/10.1007/s11064-010-0195-2

Strakowski, S. M., Williams, J. R., Fleck, D. E., & Delbello, M. P. (2000). Eight-month functional outcome from mania following a first psychiatric hospitalization. *Journal of Psychiatric Research*, *34*(3), 193-200. https://doi.org/10.1016/S0022-3956(00)00015-7

Strakowski, S. M., DelBello, M. P., Zimmerman, M. E., Getz, G. E., Mills, N. P., Ret, J., ... & Adler, C. M. (2002). Ventricular and periventricular structural volumes in first-versus multiple-episode bipolar disorder. *American Journal of Psychiatry*, *159*(11), 1841-1847. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.11.1841

Streck, E. L. (2008). Inhibition of mitochondrial respiratory chain in brain of rats subjected to an experimental model of depression. *Neurochemistry international*, *53*(6-8), 395-400. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2008.09.012

Stuss, D. T. (2011). Functions of the frontal lobes: relation toexecutive functions. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, *17*(5), 759. https://doi.org/10.1017/S1355617711000695

Sun, X., Wang, J. F., Tseng, M., & Young, L. T. (2006). Downregulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN*, *31*(3), 189–196. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1449880/pdf/20060500s00006p189.pdf

Suominen, K., Salminen, E., Lähteenmäki, S., Tupala, T., & Isometsä, E. (2015). Validity and reliability of the Finnish version of the Functioning Assessment Short Test (FAST) in bipolar disorder. *International journal of bipolar disorders*, *3*(1), 1-5. https://doi.org/10.1186/s40345-015-0025-1

Szmulewicz, A., Valerio, M. P., & Martino, D. J. (2020). Longitudinal analysis of cognitive performances in recent-onset and late-life Bipolar Disorder: A systematic review and meta-analysis. *Bipolar disorders*, *22*(1),28-37. https://doi.org/10.1111/bdi.12841

Swann, A. C., Bowden, C. L., Calabrese, J. R., Dilsaver, S. C., & Morris, D. D. (1999). Differential effect of number of previous episodes of affective disorder on response to lithium or divalproex in acute mania. *American Journal of Psychiatry*, *156*(8), 1264-1266.

Sylvia, L. G., Shelton, R. C., Kemp, D. E., Bernstein, E. E., Friedman, E. S., Brody, B. D., ... & Calabrese, J. R. (2015). Medical burden in bipolar disorder: findings from the Clinical and

Health Outcomes Initiative in Comparative Effectiveness for Bipolar Disorder study (Bipolar CHOICE). *Bipolar disorders*, *17*(2), 212-223. https://doi.org/10.1111/bdi.12243

Szepesi, Z., Manouchehrian, O., Bachiller, S., & Deierborg, T. (2018). Bidirectional microglia-neuron communication in health and disease. *Front. Cell. Neurosci* 12:323. https://doi:10.3389/fncel.2018.00323

Tabarés-Seisdedos, R., Balanzá-Martínez, V., Sánchez-Moreno, J., Martinez-Aran, A., Salazar-Fraile, J., Selva-Vera, G., ... & Vieta, E. (2008). Neurocognitive and clinical predictors of functional outcome in patients with schizophrenia and bipolar I disorder at one-year follow-up. *Journal of affective disorders*, *109*(3), 286-299. https://doi.org/10.1016/j.jad.2007.12.234.

Takebayashi, M., Hisaoka, K., Nishida, A., Tsuchioka, M., Miyoshi, I., Kozuru, T., ... & Yamawaki, S. (2006). Decreased levels of whole blood glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in remitted patients with mood disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *9*(5), 607-612.https://doi.org/10.1017/S1461145705006085

Tapia-Arancibia, L., Rage, F., Givalois, L., & Arancibia, S. (2004). Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Frontiers in neuroendocrinology*, *25*(2), 77-107. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2004.04.001

Tatay-Manteiga, A., Balanzá-Martínez, V., Bristot, G., Tabarés-Seisdedos, R., Kapczinski, F., & Cauli, O. (2019). Peripheral oxidative stress markers in patients with bipolar disorder during euthymia and in siblings. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, *20*(1), 77-86. https://doi.org/10.2174/1871530319666190307165355

Thompson, J. M., Gallagher, P., Hughes, J. H., Watson, S., Gray, J. M., Ferrier, I. N., & Young, A. H. (2005). Neurocognitive impairment in euthymic patients with bipolar affective disorder. *The British Journal of Psychiatry*, *186*(1), 32-40. https://doi:10.1192/bjp.186.1.32

Tohen, M., Hennen, J., Zarate Jr, C. M., Baldessarini, R. J., Strakowski, S. M., Stoll, A. L., ... & Cohen, B. M. (2000). Two-year syndromal and functional recovery in 219 cases of first-episode major affective disorder with psychotic features. *American Journal of Psychiatry*, *157*(2), 220-228.

Tohen, M., Zarate Jr, C. A., Hennen, J., Khalsa, H. M. K., Strakowski, S. M., Gebre-Medhin, P., ... & Baldessarini, R. J. (2003). The McLean-Harvard first-episode mania study: prediction of recovery and first recurrence. *American Journal of Psychiatry*, *160*(12), 2099-2107. https://doi:10.1176/appi.ajp.160.12.2099.

Tramontina, J. F., Andreazza, A. C., Kauer-Sant'Anna, M., Stertz, L., Goi, J., Chiarani, F., & Kapczinski, F. (2009). Brain-derived neurotrophic factor serum levels before and after treatment for acute mania. *Neuroscience letters*, *452*(2), 111-113. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.01.028

Tsai, M. C., & Huang, T. L. (2015). Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) is a state biomarker of oxidative stress in bipolar patients in a manic phase. *Journal of affective disorders*, *173*, 22-26. https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.10.045

Tseng, M., Alda, M., Xu, L., Sun, X., Wang, J. F., Grof, P., ... & Young, L. T. (2008). BDNF protein levels are decreased in transformed lymphoblasts from lithium-responsive patients with bipolar disorder. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*, *33*(5), 449. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2527719/pdf/20080900s00008p449.pdf

Tunca, Z., Ozerdem, A., Ceylan, D., Yalçın, Y., Can, G., Resmi, H., ... & Kerim, D. (2014). Alterations in BDNF (brain derived neurotrophic factor) and GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) serum levels in bipolar disorder: the role of lithium. *Journal of affective disorders*, *166*, 193-200. https://doi:10.1016/j.jad.2014.05.012

Tunçel, Ö. K., Sarısoy, G., Bilgici, B., Pazvantoglu, O., Çetin, E., Ünverdi, E., ... & Böke, Ö. (2015). Oxidative stress in bipolar and schizophrenia patients. *Psychiatry research*, *228*(3), 688-694. https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.04.046

Tunçel, Ö. K., Sarisoy, G., Çetin, E., Kaynar Tunçel, E., Bilgici, B., & Karaustaoğlu, A. (2020). Neurotrophic factors in bipolar disorders patients with manic episode. *Turkish journal of medical sciences*, *50*(4), 985–993. https://doi.org/10.3906/sag-1907-70

Ulrich-Lai, Y. M., & Herman, J. P. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature reviews neuroscience*, *10*(6), 397-409. https://doi:10.1038/nrn2647

Uyanik, V., Tuglu, C., Gorgulu, Y., Kunduracilar, H., and Uyanik, M. S. (2015).Assessment of cytokine levels and hs-CRP in bipolar I disorder before and after treatment. *Psychiatry R*es. 228, 386–392. https://doi:10.1016/j.psychres.2015.05.078

Vakifahmetoglu-Norberg, H., Ouchida, A. T., & Norberg, E. (2017). The role of mitochondria in metabolism and cell death. *Biochemical and biophysical research communications*, *482*(3), 426-431. https://doi:10.1016/j.bbrc.2016.11.088

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *39*(1), 44-84.

https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001

Varela, R. B., Valvassori, S. S., Lopes-Borges, J., Mariot, E., Dal-Pont, G. C., Amboni, R. T., ... & Quevedo, J. (2015). Sodium butyrate and mood stabilizers block ouabain-induced hyperlocomotion and increase BDNF, NGF and GDNF levels in brain of Wistar rats. *Journal of Psychiatric Research*, 61, 114-121 https://doi:10.1016/j.jpsychires.2014.11.003.

Valvassori, S. S., Bavaresco, D. V., Budni, J., Bobsin, T. S., Gonçalves, C. L., de Freitas, K. V., et al. (2014). Effects of tamoxifen on tricarboxylic acid cycle enzymes in the brain of rats submitted to an animal model of mania induced by amphetamine. *Psychiatry Res.* 215, 483–487. https://10.1016/j.psychres.2013.11.016

Valvassori, S. S., Arent, C. O., Steckert, A. V., Varela, R. B., Jornada, L. K., Tonin, P. T., et al. (2015). Intracerebral administration of BDNF protects rat brain against oxidative stress induced by ouabain in an animal model of mania. *Mol. Neurobiol*. 52, 353–362. https://doi:10.1007/s12035-014-8873-8

Valvassori, S. S., Bavaresco, D. V., Feier, G., Cechinel-Recco, K., Steckert, A. V., Varela, R. B., ... & Quevedo, J. (2018). Increased oxidative stress in the mitochondria isolated from lymphocytes of bipolar disorder patients during depressive episodes. *Psychiatry research*, *264*, 192-201. https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.03.089

Vasconcelos-Moreno, M. P., Bücker, J., Bürke, K. P., Czepielewski, L., Santos, B. T., Fijtman, A., & Kauer Sant'Anna, M. (2016). Cognitive performance and psychosocial functioning in patients with bipolar disorder, unaffected siblings, and healthy controls. *Brazilian Journal of Psychiatry*, *38*(4), 275-280. http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2015-1868

Vasconcelos-Moreno, M. P., Fries, G. R., Gubert, C., Dos Santos, B. T. M. Q., Fijtman, A., Sartori, J., ... & Kauer-Sant'Anna, M. (2017). Telomere length, oxidative stress, inflammation and BDNF levels in siblings of patients with bipolar disorder: implications for accelerated cellular aging. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(6), 445-454. https://doi:10.1093/ijnp/pyx001

Vieta, E., Cieza, A., Stucki, G., Chatterji, S., Nieto, M., Sánchez-Moreno, J., ... & Ayuso-Mateos, J. L. (2007). Developing core sets for persons with bipolar disorder based on the International Classification of Functioning, Disability and Health. *Bipolar disorders*, *9*(1-2), 16-24. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2007.00322.x

Vieta, E., Reinares, M., & Rosa, A. R. (2011). Staging bipolar disorder. *Neurotoxicity research*, *19*(2), 279-285. https://link.springer.com/article/10.1007/s12640-010-9197-8

Vieta, E., Popovic, D., Rosa, A. R., Solé, B., Grande, I., Frey, B. N., ... & Kapczinski, F. (2013). The clinical implications of cognitive impairment and allostatic load in bipolar disorder. *European Psychiatry*, *28*(1), 21-29. https://doi:10.1016/j.eurpsy.2011.11.007

Voets, A. M., Huigsloot, M., Lindsey, P. J., Leenders, A. M., Koopman, W. J. H., Willems, P. H. G. M., et al. (2012). Transcriptional changes in OXPHOS complex I deficiency are related to anti-oxidant pathways and could explain the disturbed calcium homeostasis. *Biochim. Biophys. Acta* 1822, 1161–1168. https://doi:10.1016/j.bbadis.2011.10.009

Wang, D., Li, H., Du, X., Zhou, J., Yuan, L., Ren, H., et al. (2020). Circulating brainderived neurotrophic factor, antioxidant enzymes activities and mitochondrial DNA in bipolar disorder: an exploratory report. *Front. Psychiatry* 11:514658. https://doi:10.3389/fpsyt.2020.514658

Washizuka, S., Kakiuchi, C., Mori, K., Tajima, O., Akiyama, T., & Kato, T. (2005). Expression of mitochondria-related genes in lymphoblastoid cells from patients with bipolar disorder. *Bipolar disorders*, 7(2), 146-152. https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2005.00184.x

Weiner, M., Warren, L., & Fiedorowicz, J. G. (2011). Cardiovascular morbidity and mortality in bipolar disorder. *Annals of clinical psychiatry: official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists*, *23*(1), 40.

Weiss, R. B., Stange, J. P., Boland, E. M., Black, S. K., LaBelle, D. R., Abramson, L. Y., & Alloy, L. B. (2015). Kindling of life stress in bipolar disorder: comparison of sensitization and autonomy models. *Journal of abnormal psychology*, *124*(1), 4. https://doi.org/10.1037/abn0000014

Wendel, A. (1981). [44] Glutathione peroxidase. In *Methods in enzymology* (Vol. 77, pp. 325-333). Academic Press. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(81)77046-0

West, A. P., Shadel, G. S., & Ghosh, S. (2011). Mitochondria in innate immune responses. *Nature Reviews Immunology*, *11*(6), 389-402. https://doi:10.1038/nri2975

Wong, A., Mok, V. C., Kwong Tang, W., Lam, W. W., & Sing Wong, K. (2007). Comparing Mattis Dementia Rating Scale–initiation/perseveration subset and frontal assessment battery in stroke associated with small vessel disease. *Journal of clinical and experimental neuropsychology*, *29*(2), 160-169. https://doi:10.1080/13803390600582453.

Yang, T., Zhao, G., Mao, R., Huang, J., Xu, X., Su, Y., ...& Fang, Y. (2018). The association of duration and severity of disease with executive function: differences between drug-naïve

patients with bipolar and unipolardepression. *Journal of affective disorders*, *238*, 412-417. https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.05.051

Yang, T., Lam, R. W., Huang, J., Su, Y., Liu, J., Yang,X., ... & Fang, Y. (2021). Exploring the Effects of Temperament on Gray Matter Volume of Frontal Cortex in Patients with Mood Disorders. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *17*, 183. https://doi.org/10.2147/NDT.S287351

Yoshimi, N., Futamura, T., Kakumoto, K., Salehi, A. M., Sellgren, C. M., Holmén-Larsson, J., et al. (2016). Blood metabolomics analysis identifies abnormalities in the citric acid cycle, urea cycle and amino acid metabolism in bipolar disorder. *BBA Clin*. 5, 151–158. https://doi:10.1016/j.bbacli.2016.03.008

Young, R. C., Biggs, J. T., Ziegler, V. E., & Meyer, D. A. (1978). A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. *The British journal of psychiatry*, *133*(5), 429- 435. https://doi:10.1192/bjp.133.5.429.

Young, AH, & Juruena, MF (2020). (eds) Bipolar Disorder: From Neuroscience to Treatment. Current Topics in Behavioral Neurosciences, vol 48. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/7854_2020_179

Yoshimura, R., Nakano, Y., Hori, H., Ikenouchi, A., Ueda, N., & Nakamura, J. (2006). Effect of risperidone on plasma catecholamine metabolites and brain-derived neurotrophic factor in patients with bipolar disorders. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, *21*(7), 433-438. https://doi.org/10.1002/hup.804

Zhang, X. Y., Chen, D.-C., Tan, Y.-L., Tan, S.-P., Wang, Z.-R., Yang, F.-D., et al. (2015). The interplay between BDNF and oxidative stress in chronic schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 51, 201–208. https://doi:10.1016/j.psyneuen.2014.09.029

Zhang, Y., Long, X., Ma, X., He, Q., Luo, X., Bian, Y., ... & Xiang, Y. T. (2018). Psychometric properties of the Chinese version of the Functioning Assessment Short Test (FAST) in bipolar disorder. *Journal of affective disorders*, *238*, 156-160. https://doi:10.1016/j.jad.2018.05.019

Zhang, X., Alnafisah, R. S., Hamoud, A. R. A., Shukla, R., Wen, Z., McCullumsmith, R. E., & O'Donovan, S. M. (2021). Role of astrocytes in major neuropsychiatric disorders. *Neurochemical research*, 1-16. https://doi:10.1007/s11064-020-03212-x

Zhu, C. B., Blakely, R. D., & Hewlett, W. A. (2006). The proinflammatory cytokines interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha activate serotonin transporters. *Neuropsychopharmacology*, *31*(10), 2121-2131. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301029

Zuccoli, G. S., Saia-Cereda, V. M., Nascimento, J. M., & Martins-de-Souza, D. (2017). The energy metabolism dysfunction in psychiatric disorders postmortem brains: focus on proteomic evidence. *Frontiers in neuroscience*, 11, 493. https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00493

Zvěřová, M., Hroudová, J., Fišar, Z., Hansíková, H., Kališová, L., Kitzlerová, E., ... & Raboch, J. (2019). Disturbances of mitochondrial parameters to distinguish patients with depressive episode of bipolar disorder and major depressive disorder. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 15, 233. https://DOI10.2147/NDT.S188964

ANEXOS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de diferentes biomarcadores e suas relações com o estado funcional em pacientes com transtorno bipolar tipo I/II em eutimia, durante estágios precoce e tardio

Pesquisador: Luiz Arthur Rangel Cyrino

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 91782218.6.0000.5366

Instituição Proponente: FUNDACAO EDUCACIONAL DA REGIAO DE JOINVILLE - UNIVILLE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.830.043

Apresentação do Projeto:

Consta no Parecer Consubstanciado do CEP - Número 2.772.615.

Objetivo da Pesquisa:

Consta no Parecer Consubstanciado do CEP - Número 2.772.615.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Consta no Parecer Consubstanciado do CEP - Número 2.772.615.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Consta no Parecer Consubstanciado do CEP - Número 2.772.615, contudo, o pesquisador, em carta de respostas, incluiu na metodologia do estudo proposto as informações relativas à determinação da medida dos biomarcadores séricos; apresentou o valor correto do orçamento da pesquisa e os responsáveis pelo custeio do projeto, conforme solicitado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Consta no Parecer Consubstanciado do CEP - Número 2.772.615, no entanto, o pesquisador, em carta de respostas, esclareceu que o TCLE foi alterado, para atender à recomendação deste CEP, substituindo a palavra sujeito por participante.

Recomendações:

Ao finalizar a pesquisa, o (a) pesquisador (a) responsável deve enviar ao Comitê de Ética, por meio

do sistema Plataforma Brasil, o Relatório Final (modelo de documento na página do CEP no sítio da Univille Universidade).

Segundo a Resolução 466/12, no item

XI- DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL

XI.2 - Cabe ao pesquisador:
d) Elaborar e apresentar o relatório final;

Modelo de relatório para download na página do CEP no sítio da Univille Universidade.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto "Avaliação de diferentes biomarcadores e suas relações com o estado funcional em pacientes com transtorno bipolar tipo I/II em eutimia, durante estágios precoce e tardio", sob CAAE "91782218.6.0000.5366" teve suas pendências esclarecidas pelo (a) pesquisador(a) "Luiz Arthur Rangel Cyrino", de acordo com a Resolução CNS 466/12 e complementares, portanto, encontra-se APROVADO.

Informamos que após leitura deste parecer, é imprescindível a leitura do item "O Parecer do CEP" na página do Comitê no sítio da Univille, pois os procedimentos seguintes, no que se refere ao enquadramento do protocolo, estão disponíveis na página. Segue o link de acesso http://www.univille.edu.br/pt-BR/a-univille/proreitorias/prppg/setores/area-pesquisa/comite-etica-pesquisa/status-parecer/645062.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade da Região de Joinville - Univille, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1137928.pdf	01/08/2018 18:16:27		Aceito

Outros	XXX_Carta_Resposta.docx	01/08/2018 18:15:45	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	29/07/2018 21:34:31	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.docx	17/06/2018 18:48:45	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Cronograma	cronograma_financeiro.docx	13/06/2018 16:41:07	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Cronograma	Cronograma_projeto.docx	13/06/2018 16:40:37	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.docx	13/06/2018 16:39:11	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DECLARACAO_PORTO_SEGURO.pdf	13/06/2018 15:17:46	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Outros	entrevista_psiquiatrica.docx	06/06/2018 14:06:19	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Outros	Escala_de_Mania_de_Young.pdf	06/06/2018 14:04:38	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Outros	Escala_de_Hamilton.docx	06/06/2018 14:01:47	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito
Outros	ESCALA_FAST.docx	06/06/2018 14:00:30	Luiz Arthur Rangel Cyrino	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

JOINVILLE, 19 de Agosto de 2018

Assinado por:
Marcia Luciane Lange Silveira
(Coordenador)

DECLARAÇÃO DE INSTITUIÇÃO CO-PARTICIPANTE

Declaramos para os devidos fins que concordamos com os itens citados no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que será assinado pelo participante da pesquisa intitulada "Avaliação de diferentes biomarcadores e suas relações com o estado funcional em pacientes com transtorno bipolar tipo I/II em eutimia, durante estágios precoce e tardio." realizado pela Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE. Assim autorizamos o pesquisador responsável, Prof. Luiz Arthur Rangel Cyrino, docente da mesma Universidade a realizar a pesquisa acima. Cumpriremos o que determina a Resolução CNS 466/2012 e contribuiremos com a pesquisa mencionada sempre que necessário, fornecendo informações de registros médicos de pacientes relacionados à ela. Sabemos que nossa instituição poderá a qualquer fase dessa pesquisa retirar esse consentimento. Também foi pelo pesquisador acima mencionado, garantido o sigilo e assegurado a privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

Concordamos que os resultados deste estudo poderão ser apresentados por escrito ou oralmente em congressos e revistas científicas.

Colocamo-nos à disposição para qualquer dúvida que se faça necessária.

Atenciosamente

Dr Geo Marques Filho
Diretor Responsável do Hospital Psiquiátrico Porto Seguro

Dr. Géo Marques Filho
CRM 4573
CPF 183.977.439-87

Rua Brigadeiro Franco, 3888 - Curitiba - Paraná - CEP 80220-100
Fone: (41) 3019-1234 / atendimento@clinicaportoseguro.com.br
www.clinicaportoseguro.com.br

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada "Avaliação de diferentes biomarcadores e suas relações com o estado funcional e cognitivo em pacientes com transtorno bipolar tipo I/II em eutimia, durante estágios precoce e tardio". O objetivo deste estudo é identificar possíveis biomarcadores séricos em pacientes bipolares na intenção de facilitar o diagnóstico, o prognóstico e tratamento. Os procedimentos se baseiam em dois processos. O primeiro será de coleta de dados que se dará por meio da técnica de entrevista e escalas de avaliação para mania, depressão e escala de funcionalidade. O segundo procedimento será a coleta de 10 ml de sangue para posterior medida dos biomarcadores séricos. Com os dados será elaborado um artigo. Posteriormente à pesquisa, o pesquisador responsável se compromete em arquivá-los por cinco anos, em arquivo pessoal. Após este período os dados serão destruídos, por meio de incineração. As entrevistas e a coleta de sangue trarão riscos mínimos para você, e nos comprometemos a amenizar qualquer desconforto que possa ocorrer. Sua participação é voluntária e você terá a liberdade de se recusar a responder às perguntas que lhe ocasionem constrangimento de alguma natureza. Você também poderá desistir da pesquisa a qualquer momento, sem que a recusa ou a desistência lhe acarrete qualquer prejuízo, bem como terá livre acesso aos resultados do estudo e garantido esclarecimento antes e durante a pesquisa, sobre a metodologia ou objetivos. Você terá garantia de acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O pesquisador responsável por esta investigação é o professor Luiz Arthur Rangel Cyrino que pode ser encontrada no Departamento de Farmácia da Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, no seguinte endereço: Campus Universitário – Joinville – SC, telefone (47) 3461-9185. É importante saber que não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. É garantido o sigilo e assegurada a privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa. Os resultados deste estudo poderão ser apresentados por escrito ou oralmente em congressos e revistas científicas, sem que os nomes dos participantes sejam divulgados. ATENÇÃO: Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIVILLE. Endereço: Rua Paulo Malschitzki. 10-Bairro Zona Industrial – Campus Universitário - CEP 89219-710 – Joinville – SC ou pelo telefone (47) 3461-9235. Após ser esclarecido (a) sobre as informações do projeto, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine o consentimento de participação, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma.

Eu, _____abaixo assinado, concordo em participar do presente estudo como participante e declaro que fui devidamente informado e esclarecido sobre a pesquisa e os procedimentos nela envolvidos.

Joinville, ___/____/____

_____

Assinatura do participante/representante legal

_____

Luiz Arthur Rangel Cyrino.

Pesquisador Responsável

YMRS

Item - definição

01. Humor e afeto elevados

Este item compreende uma sensação difusa e prolongada, subjetivamente experimentada e relatada pelo indivíduo, caracterizada por sensação de bem-estar, alegria, otimismo, confiança e ânimo. Pode haver um afeto expansivo, ou seja, uma expressão dos sentimentos exagerada ou sem limites, associada à intensa relação com sentimentos de grandeza (euforia). O humor pode ou não ser congruente ao conteúdo do pensamento.

(0) Ausência de elevação do humor ou afeto
(1) Humor ou afeto discreta ou possivelmente aumentados, quando questionado.
(2) Relato subjetivo de elevação clara do humor; mostra-se otimista, autoconfiante, alegre; afeto apropriado ao conteúdo do pensamento.
(3) Afeto elevado ou inapropriado ao conteúdo do pensamento; jocoso.
(4) Eufórico; risos inadequados, cantando.
(X) Não avaliado

02. Atividade motora - energia aumentada

Este item compreende a psicomotricidade - e expressão corporal - apresentada pelo paciente, incluindo a sua capacidade em controlá-la, variando desde um grau de normalidade, até um estado de agitação, com atividade motora sem finalidade, não influenciada por estímulos externos. O item compreende ainda o relato subjetivo do paciente, quanto à sensação de energia, ou seja, capacidade de produzir e agir.

(0) Ausente
(1) Relato subjetivo de aumento da energia ou atividade motora
(2) Apresenta-se animado ou com gestos aumentados
(3) Energia excessiva; às vezes hiperativo; inquieto (mas pode ser acalmado).
(4) Excitação motora; hiperatividade contínua (não pode ser acalmado).
(X) Não avaliado

03. Interesse sexual

Este item compreende idéias e/ou impulsos persistentes relacionados a questões sexuais, incluindo a capacidade do paciente em controlá-los. O interesse sexual pode restringir-se a pensamentos e desejos não concretizados, em geral verbalizados apenas após solicitação, podendo chegar até a um comportamento sexual frenético e desenfreado, sem qualquer controle ou crítica quanto a riscos e normas morais.

(0) Normal; sem aumento.
(1) Discreta ou possivelmente aumentado
(2) Descreve aumento subjetivo, quando questionado.
(3) Conteúdo sexual espontâneo; discurso centrado em questões sexuais; auto-relato de hipersexualidade.
(4) Relato confirmado ou observação direta de comportamento explicitamente sexualizado, pelo entrevistador ou outras pessoas.
(X) Não avaliado

04. Sono

Este item inclui a redução ou falta da capacidade de dormir, e/ou a redução ou falta de necessidade de dormir, para sentir-se bem-disposto e ativo.

(0) Não relata diminuição do sono
(1) Dorme menos que a quantidade normal, cerca de 1 hora a menos do que o seu habitual.
(2) Dorme menos que a quantidade normal, mais que 1 hora a menos do que o seu habitual.
(3) Relata diminuição da necessidade de sono
(4) Nega necessidade de sono
(X) Não avaliado

05. Irritabilidade

Este item revela a predisposição afetiva para sentimentos/emoções como raiva ou mau-humor apresentados pelo paciente frente a estímulos externos. Inclui baixo-limiar à frustração, com reações de ira exagerada, podendo chegar a um estado constante de comportamento desafiador, querelante e hostil.

(0) Ausente
(2) Subjetivamente aumentada
(4) Irritável em alguns momentos durante a entrevista; episódios recentes (nas últimas 24 horas) de ira ou irritação na enfermaria
(6) Irritável durante a maior parte da entrevista; ríspido e lacônico o tempo todo.
(8) Hostil; não cooperativo; entrevista impossível.
(X) Não avaliado

06. Fala (*velocidade e quantidade*)

Este item compreende a velocidade e quantidade do discurso verbal apresentado pelo paciente. Inclui sua capacidade de percebê-lo e controlá-lo, por exemplo, frente a solicitações para que permaneça em silêncio ou permita que o entrevistador fale.

(0) Sem aumento
(2) Percebe-se mais falante do que o seu habitual
(4) Aumento da velocidade ou quantidade da fala em alguns momentos; verborréico, às vezes (com solicitação, consegue-se interromper a fala).
(6) Quantidade e velocidade constantemente aumentadas; dificuldade para ser interrompido (não atende a solicitações; fala junto com o entrevistador).
(8) Fala pressionada, ininterruptível, contínua (ignora a solicitação do entrevistador).
(X) Não avaliado

07. Linguagem - Distúrbio do pensamento
Este item refere-se a alterações da forma do pensamento, avaliado pelas construções verbais emitidas pelo paciente. O pensamento pode estar mais ou menos desorganizado, de acordo com a gravidade das alterações formais do pensamento, descritas a seguir:
 Circunstancialidade: fala indireta que demora para atingir o ponto desejado, mas eventualmente vai desde o ponto de origem até o objetivo final, a despeito da superinclusão de detalhes;
 Tangencialidade: incapacidade para manter associações do pensamento dirigidas ao objetivo - o paciente nunca chega do ponto inicial ao objetivo final desejado;
 Fuga de idéias: verbalizações rápidas e contínuas, ou jogos de palavras que produzem uma constante mudança de uma idéia para outra; as idéias tendem a estar conectadas e, mesmo em formas menos graves, podem ser difíceis de ser acompanhadas pelo ouvinte;
 Ecolalia consonante: repetição automática de palavras ou frases, com entonação e forma que produzem efeito sonoro de rima;
 Incoerência: fala ou pensamento essencialmente incompreensíveis aos outros, porque as palavras ou frases são reunidas sem uma conexão com lógica e significado.

(0) Sem alterações
(1) Circunstancial; pensamentos rápidos.
(2) Perde objetivos do pensamento; muda de assuntos freqüentemente; pensamentos muito acelerados
(3) Fuga de idéias; tangencialidade; dificuldade para acompanhar o pensamento; ecolalia consonante
(4) Incoerência; comunicação impossível.
(X) Não avaliado

08. Conteúdo
Este item compreende idéias e crenças apresentadas pelo paciente, variando, de acordo com a intensidade, de idéias novas e/ou incomuns ao paciente, ideação supervalorizada (ou seja, crença falsa, intensamente arraigada, porém susceptível à argumentação racional), a delírios (crenças falsas, baseadas em inferências incorretas sobre a realidade, inconsistentes com a inteligência e antecedentes culturais do paciente, e que não podem ser corrigidas pela argumentação). Conteúdos comumente encontrados no paciente maníaco, incluem:
 Idéias místicas: de conteúdo religioso;
 Idéias paranóides: crença de estar sendo molestado ou perseguido;
 Idéias de grandeza: concepção exagerada da própria importância, poder ou identidade, incluindo posses materiais, qualidades incomuns e relacionamentos especiais com personalidades famosas ou entidades místicas;
 Idéias de referência: crença de que o comportamento dos outros tem relação consigo próprio ou de que eventos, objetos ou outras pessoas possuem um significado particular e incomum para si.

(0) Normal
(2) Novos interesses e planos compatíveis com a condição sócio-cultural do paciente, mas questionáveis.
(4) Projetos especiais totalmente incompatíveis com a condição sócio-econômica do paciente; hiper-religioso.
(6) Idéias supervalorizadas
(8) Delírios
(X) Não avaliado

09. Comportamento disruptivo agressivo
Este item compreende a atitude e as respostas do paciente ao entrevistador e à situação da entrevista. O paciente pode apresentar-se desconfiado ou irônico e sarcástico, mas ainda assim respondendo aos questionamentos, ou então não cooperativo e francamente agressivo, inviabilizando a entrevista.

(0) Ausente, cooperativo.
(2) Sarcástico; barulhento, às vezes, desconfiado.
(4) Ameaça o entrevistador; gritando; entrevista dificultada.
(6) Agressivo; destrutivo; entrevista impossível.
(X) Não avaliado

10. Aparência
Este item compreende a apresentação física do paciente, incluindo aspectos de higiene, asseio e modo de vestir-se.

(0) Arrumado e vestido apropriadamente
(1) Descuidado minimamente; adornos ou roupas minimamente inadequados ou exagerados.
(2) Precariamente asseado; despenteado moderadamente; vestido com exagero.
(3) Desgrenhado; vestido parcialmente; maquiagem extravagante.
(4) Completamente descuidado; com muitos adornos e adereços; roupas bizarras.
(X) Não avaliado

11. Insight (*discernimento*)
Este item refere-se ao grau de consciência e compreensão do paciente quanto ao fato de estar doente. Varia de um entendimento adequado (afetivo e intelectual) quanto à presença da doença, passando por concordância apenas frente à argumentação, chegando a uma negação total de sua enfermidade, referindo estar em seu comportamento normal e não necessitando de qualquer tratamento.

(0) Insight presente: espontaneamente refere estar doente e concorda com a necessidade de tratamento
(1) Insight duvidoso: com argumentação, admite possível doença e necessidade de tratamento.
(2) Insight prejudicado: espontaneamente admite alteração comportamental, mas não a relaciona com a doença, ou discorda da necessidade de tratamento.
(3) Insight ausente: com argumentação, admite de forma vaga alteração comportamental, mas não a relaciona com a doença e discorda da necessidade de tratamento.

(4) Insight ausente: nega a doença, qualquer alteração comportamental e necessidade de tratamento.
(X) Não avaliado

ESCALA DE HAMILTON AVALIAÇÃO DA DEPRESSÃO (HAM-D 17 itens)

1	**NA ULTIMA SEMANA VOCÊ TEM SENTIDO O SEU HUMOR DEPRIMIDO?** 0. Ausente 1. Sentimentos relatados apenas ao ser perguntado 2. Sentimentos relatados espontaneamente, com palavras 3. Comunica os sentimentos com expressão facial, postura, voz e tendência ao choro 4. Sentimentos deduzidos da comunicação verbal e não verbal do paciente	**ESCORE**
2	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO SENTIMENTOS DE CULPA?** 0. Ausentes 1. Auto-recriminação; sente que decepcionou os outros 2. Idéias de culpa ou ruminação sobre erros passados ou más ações 3. A doença atual é um castigo. Delírio de culpa 4. Ouve vozes de acusação ou denúncia e/ou tem alucinações visuais ameaçadoras	
3	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO PENSAMENTOS DE SUICÍDIO?** 0. Ausente 1. Sente que a vida não vale a pena 2. Desejaria estar morto; pensa na possibilidade de sua morte 3. Idéias ou gestos suicidas 4. Tentativa de suicídio (qualquer tentativa séria)	
4	**NA ULTIMA SEMANA TEM APRESENTADO INSÔNIA INICIAL (DIFICULDADE PARA DORMIR)** 0. Sem dificuldade 1. Tem alguma dificuldade ocasional, isto é, mais de meia hora 2. Queixa de dificuldade para conciliar todas as noites	
5	**NA ULTIMA SEMANA TEM APRESENTADO INSÔNIA INTERMEDIÁRIA (ACORDAR A NOITE)** 0. Sem dificuldade 1. Queixa-se de inquietude e perturbação durante a noite 2. Acorda à noite; qualquer saída da cama (exceto para urinar)	
6	**NA ULTIMA SEMANA TEM APRESENTADO INSÔNIA TARDIA** 0. Sem dificuldade 1. Acorda de madrugada, mas volta a dormir 2. Incapaz de voltar a conciliar o sono ao deixar a cama	

7	**NA ULTIMA SEMANA TEM APRESENTADO DIFICULDADES NOSTRABALHOS E ATIVIDADES?** 0. Sem dificuldade 1. Pensamento/sentimento de incapacidade, fadiga, fraqueza relacionada às atividades; trabalho ou passatempos 2. Perda de interesse por atividades (passatempos, trabalho) – quer diretamente relatada pelo paciente, ou indiretamente, por desatenção, indecisão e vacilação (sente que precisa se esforçar para o trabalho ou atividades). 3. Diminuição do tempo gasto em atividades ou queda da produtividade. No hospital, marcar 3 se o paciente passa menos de 3h em atividades externas (passatempos ou trabalho hospitalar) 4. Parou de trabalhar devido à doença atual. No hospital, marcar 4 se o paciente não se ocupar de outras atividades além de pequenas tarefas do leito, ou for incapaz de realizá-las sem auxílio	
8	**NA ULTIMA SEMANA TEM APRESENTADO RETARDO (DIFICULDADE) NA FALA E NO PENSAMENTO?** 0. Pensamento e fala normais	
	1. Leve retardo 2. Retardo importante 3. Estupor completo	
9	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO AGITAÇÃO?** 0. Nenhuma 1. Brinca com as mãos ou com os cabelos, etc 2. Troce as mãos, rói as unhas, puxa os cabelos, morde os lábios	
10	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO ANSIEDADE PSÍQUICA?** 0. Sem ansiedade 1. Tensão e irritabilidade subjetivas 2. Preocupação com trivialidades 3. Atitude apreensiva aparente no rosto ou fala 4. Medos expressos sem serem inquiridos	
11	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO ANSIEDADE SOMÁTICA?**(sintomas fisiológicos de ansiedade: boca seca, flatulência, indigestão, diarréia, cólicas, eructações; palpitações, cefaléia, hiperventilação, suspiros, sudorese, freqüência urinária) 0. Ausente 1. Leve 2. Moderada 3. Grave 4. Incapacitante	
12	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO SINTOMAS SOMÁTICOS GASTROINTESTINAIS?** 0. Nenhum 1. Perda do apetite, mas alimenta-se voluntariamente; sensações de peso no abdome 2. Dificuldade de comer se não insistirem. Solicita ou exige laxativos ou medicações para os intestinos ou para sintomas digestivos	

13	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO SINTOMAS SOMÁTICOS EM GERAL?** 0. Nenhum 1. Peso nos membros, costas ou cabeça. Dores nas costas, cefaléia, mialgia. Perda de energia e cansaço 2. Qualquer sintoma bem caracterizado e nítido, marcar 2	
14	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO SINTOMAS GENITAIS?** (perda da libido, sintomas menstruais) 0. Ausentes 1. Leves distúrbios menstruais 2. Intensos	
15	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO HIPOCONDRIA (PREOCUPAÇÃO COM SINTOMAS OU SAÚDE)** 0. Ausente 1. Auto-observação aumentada (com relação ao corpo) 2. Preocupação com a saúde 3. Queixas freqüentes, pedidos de ajuda, etc 4. Idéias delirantes hipocondríacas	
16	**NA ÚLTIMA SEMANA TEM APRESENTADO PERDA DE PESO** 0. Sem perda de peso ou perda de peso não causada pela doença atual 1. Provável perda de peso da doença atual. Perda de menos de meio quilo 2. Perda de peso definitivamente causada pela doença atual .	
17	**NA ÚLTIMA SEMANA VOCÊ TEM SE PERCEBIDO OU SE SENTIDO DOENTE?** 0. Reconhece que não está deprimido ou doente 1. Reconhece a doença mas atribui a causa à má alimentação, ao clima, ao excesso de trabalho, a vírus, necessidade de repouso 2. Percebe-se doente	

ESCORE TOTAL =_____PONTOS

ESCALA BREVE DE FUNCIONAMENTO (FAST)

Qual é o grau de dificuldade em relação aos seguintes aspectos?
Por favor, **pergunte ao paciente as frases abaixo** e responda a que melhor descreve **seu grau de dificuldade**.
Para responder utilize a seguinte escala:

(0) nenhuma; (1) pouca; (2) bastante; (3) imensa

AUTONOMIA				
1. Ser responsável pelas tarefas de casa	(0)	(1)	(2)	(3)
2. Morar sozinho	(0)	(1)	(2)	(3)
3. Fazer as compras da casa	(0)	(1)	(2)	(3)
4. Cuidar de si mesmo (aspecto físico, higiene...)	(0)	(1)	(2)	(3)
TRABALHO				
5. Realizar um trabalho remunerado	(0)	(1)	(2)	(3)
6. Terminar as tarefas tão rápido quanto necessário	(0)	(1)	(2)	(3)
7. Obter o rendimento previsto no trabalho	(0)	(1)	(2)	(3)
8. Trabalhar de acordo com seu nível de escolaridade	(0)	(1)	(2)	(3)
9. Ser remunerado de acordo com o cargo que ocupa	(0)	(1)	(2)	(3)
COGNIÇÃO				
10. Concentrar-se em uma leitura ou filme	(0)	(1)	(2)	(3)
11. Fazer calcular mentais	(0)	(1)	(2)	(3)
12. Resolver adequadamente os problemas	(0)	(1)	(2)	(3)
13. Lembrar o nome de pessoas novas	(0)	(1)	(2)	(3)
14. Aprender uma nova informação	(0)	(1)	(2)	(3)
FINANÇAS				
15. Administrar seu próprio dinheiro	(0)	(1)	(2)	(3)
16. Fazer compras equilibradas	(0)	(1)	(2)	(3)
RELAÇÕES INTERPESSOAIS				
17. Manter uma amizade	(0)	(1)	(2)	(3)
18. Participar de atividades sociais	(0)	(1)	(2)	(3)
19. Dar-se bem com as pessoas à sua volta	(0)	(1)	(2)	(3)
21. Relações sexuais satisfatórias	(0)	(1)	(2)	(3)
22. Capaz de defender os próprios interesses	(0)	(1)	(2)	(3)
LAZER				
23. Praticar esporte ou exercício	(0)	(1)	(2)	(3)
24. Ter atividade de lazer	(0)	(1)	(2)	(3)

Apêndice. Bateria de Avaliação Frontal (versão brasileira; Bateria de Avaliação Frontal - FAB).

1. Similaridades (conceituação)

"De que maneira eles são parecidos?"

"Uma banana e uma laranja".

(Caso ocorra falha total: "eles não são parecidos" ou falha parcial: "ambas têm casca", ajude o paciente dizendo: "tanto a banana quanto a laranja são..."; mas credite 0 para o item; não ajude o paciente nos dois itens seguintes).

"Uma mesa e uma cadeira".

"Uma tulipa, uma rosa e uma margarida".

Escore (apenas respostas de categorias [frutas, móveis, flores] são consideradas corretas).

- Três corretas: 3
- Duas corretas: 2
- Uma correta: 1
- Nenhuma correta: 0

2. Fluência lexical (flexibilidade mental)

"Diga quantas palavras você puder começando com a letra 'S', qualquer palavra exceto sobrenomes ou nomes próprios".

Se o paciente não responder durante os primeiros 5 segundos, diga: "por exemplo, sapo". Se o paciente fizer uma pausa de 10 segundos, estimule-o dizendo: "qualquer palavra começando com a letra 'S'". O tempo permitido é de 60 segundos.

Escore (repetições ou variações de palavras [sapato, sapateiro], sobrenomes ou nomes próprios não são contados como respostas corretas).

- Mais do que nove palavras: 3
- Seis a nove palavras: 2
- Três a cinco palavras: 1
- Menos de três palavras: 0

3. Série motora (programação)

"Olhe cuidadosamente para o que eu estou fazendo".

O examinador, sentado em frente ao paciente, realiza sozinho, três vezes, com sua mão esquerda a série de Luria "punho-borda-palma".

"Agora, com sua mão direita faça a mesma série, primeiro comigo, depois sozinho".

O examinador realiza a série três vezes com o paciente, então diz a ele/ela: "Agora, faça sozinho".

Escore

- Paciente realiza seis séries consecutivas corretas sozinho: 3
- Paciente realiza pelo menos três séries consecutivas corretas sozinho: 2
- Paciente fracassa sozinho, mas realiza três séries consecutivas corretas com o examinador: 1
- Paciente não consegue realizar três séries consecutivas corretas mesmo com o examinador: 0

4. Instruções conflitantes (sensibilidade a interferência)

"Bata duas vezes quando eu bater uma vez".

Para ter certeza de que o paciente entendeu a instrução, uma série de três tentativas é executada: 1-1-1.

"Bata uma vez quando eu bater duas vezes".

Para ter certeza de que o paciente entendeu a instrução, uma série de três tentativas é executada:

2-2-2.

O examinador executa a seguinte série: 1-1-2-1-2-2-2-1-1-2.

Escore

- Nenhum erro: 3
- Um ou dois erros: 2
- Mais de dois erros: 1
- Paciente bate como o examinador pelo menos quatro vezes consecutivas: 0

5. Vai-não vai (controle inibitório)

"Bata uma vez quando eu bater uma vez"

Para ter certeza de que o paciente entendeu a instrução, uma série de três tentativas é executada: 1-1-1.

"Não bata quando eu bater duas vezes".

Para ter certeza de que o paciente entendeu a instrução, uma série de três tentativas é executada: 2-2-2.

O examinador executa a seguinte série: 1-1-2-1-2-2-2-1-1-2.

Escore

- Nenhum erro: 3
- Um ou dois erros: 2
- Mais de dois erros: 1
- Paciente bate como o examinador pelo menos quatro vezes consecutivas: 0

6. Comportamento de preensão (autonomia ambiental)

"Não pegue minhas mãos"

O examinador está sentado em frente ao paciente. Coloca as mãos do paciente, com as palmas para cima, sobre os joelhos dele/dela. Sem dizer nada ou olhar para o paciente, o examinador coloca suas mãos perto das mãos do paciente e toca as palmas de ambas as mãos do paciente, para ver se ele/ela pega-as espontaneamente. Se o paciente pegar as mãos, o examinador tentará novamente após pedir a ele/ela: "Agora, não pegue minhas mãos".

Escore

- Paciente não pega as mãos do examinador: 3
- Paciente hesita e pergunta o que ele/ela deve fazer: 2
- Paciente pega as mãos sem hesitação: 1
- Paciente pega as mãos do examinador mesmo depois de ter sido avisado para não fazer isso: 0

KEGG Database Project
Kanehisa Laboratories
www.kanehisa.jp

Ref: 210941

Permission is granted to Scientific Reports of Springer Nature Ltd to publish both in print and digital under the CC BY 4.0 open access license the following KEGG pathway map image in the article "Assessment and Association between the Different Categories of Peripheral Biomarkers related to Impairment in Domain Functionalities and Executive Functions in Euthymic Patients with Bipolar Disorder I/II - Utilizing the FAST and FAB tests. " written by LUIZ ARTHUR RANGEL CYRINO and colleagues:

- Oxidative phosphorylation (map00190)

subject to the condition that the original source is acknowledged by citing at least oneKEGG paper.

Permission granted: Naomi Takahashi

Naomi Takahashi, Kanehisa Laboratories

Date: 6 September 2021

Copyright holder: Kanehisa Laboratories

Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação, autorizo a Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE) a disponibilizar em ambiente digital institucional, Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/IBICT) e/ou outras bases de dados científicas, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o texto integral da obra abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data 27/03/2022.

1. Identificação do material bibliográfico: (xx) Tese ( ) Dissertação ( ) Trabalho de Conclusão

2. Identificação da Tese ou Dissertação:
Autor: Luiz Arthur Rangel Cyrino
Orientador: Dra. Daniela Delwing-de Lima Coorientador: _XXXXX
Data de Defesa: 04/03/22
Título: **Avaliação e Associação entre as Diferentes Categorias de Biomarcadores Periféricos relacionados ao comprometimento das Funções Cognitivas e da Funcionalidade em Pacientes Eutímicos com Transtorno Bipolar I / II – Utilizando os testes FAB e FAST.**

Instituição de Defesa: UNIVILLE

3.Informação de acesso ao documento:

Pode ser liberado para publicação integral (x) Sim ( ) Não

Havendo concordância com a publicação eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese, dissertação ou relatório técnico.

Assinatura do autor

Joinville, 27/03/22
Local/Data