

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

LUAN MACHADO MAIDANA

**TREINAMENTO DE FORÇA AMENIZA ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICAS INDUZIDAS POR UM MODELO DE TRANSTORNO BIPOLAR
EM RATOS**

**Uruguaiiana
2024**

LUAN MACHADO MAIDANA

**TREINAMENTO DE FORÇA AMENIZA ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICAS INDUZIDAS POR UM MODELO DE TRANSTORNO BIPOLAR
EM RATOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Strictu sensu* em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Magno Rambo

**Uruguiana
2024**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

M217t Maidana, Luan
TREINAMENTO DE FORÇA AMENIZA ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICAS INDUZIDAS POR UM MODELO DE TRANSTORNO BIPOLAR EM
RATOS / Luan Maidana.

70 p.

Dissertação(Mestrado)-- Universidade Federal do Pampa,
MESTRADO EM BIOQUÍMICA, 2024.

"Orientação: Leonardo Rambo".

1. Bioquímica. 2. Transtorno Bipolar. 3. Treinamento
Físico. 4. Memória. I. Título.

LUAN MACHADO MAIDANA

**TREINAMENTO DE FORÇA AMENIZA ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICAS INDUZIDAS POR UM MODELO DE TRANSTORNO BIPOLAR EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica.

Dissertação defendida e aprovada em: 26 de julho de 2024.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Leonardo Magno Rambo (UNIPAMPA)

Orientador

Prof. Dr. Felipe Pivetta Carpes (UNIPAMPA)

gov.br

Documento assinado digitalmente
SAMIRA DA SILVA VALVASSORI
Data: 02/09/2024 17:01:42-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dra. Samira da Silva Valvassori

(UNESC)



Assinado eletronicamente por **LEONARDO MAGNO RAMBO, PROFESSOR MAGISTÉRIO SUPERIOR**, em 02/09/2024, às 16:39, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **FELIPE PIVETTA CARPES, Coordenador(a) de Curso**, em 02/09/2024, às 16:48, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unipampa.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1534027** e o código CRC **02F8D257**.

Dedico esse trabalho às maiores
inspirações da minha vida, minha mãe,
Ana e minha irmã, Amanda.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família por todo o apoio durante essa jornada, à minha mãe pelo olhar carinhoso e à minha irmã pelas palavras de incentivo.

Agradeço ao meu orientador, professor Leonardo Rambo, por acreditar em mim até em momentos que eu mesmo não acreditava. Obrigado pelo carinho, pelas palavras de apoio e pela oportunidade confiada a mim.

Agradeço ao meu grupo de pesquisa, BioFEx, por estarem comigo durante toda a execução desse trabalho, pelos dias exaustivos, pelos finais de semana no laboratório. Agradeço também às boas risadas, ao companheirismo desses momentos. Aqui vale um agradecimento especial aos meus amados “docs”, Adson e Jozyê, os quais eu tenho a honra de chamar de amigos... bons amigos... os melhores amigos que um mestrando assustado poderia ter. Agradeço a vocês por não soltarem a minha mão, por estarem comigo nos momentos de maior desafio desse trabalho, agradeço por terem apostado em mim. Obrigado *guris* pelas orientações, pelo respeito e principalmente, pela imensurável paciência, sem vocês esse trabalho não seria possível.

Agradeço também ao laboratório BioEx/UFSM, principalmente ao professor Luiz Fernando Royes e ao Douglas Godinho, pelo acolhimento e auxílio durante a nossa curta, porém, intensa, passagem.

Agradeço à Universidade Federal do Pampa, por ser a casa que eu escolhi por todos esses anos. Ao programa de pós-graduação em Bioquímica e ao corpo docente pelos ensinamentos. À CAPES pelo incentivo através da bolsa de estudos que possibilitou a realização dessa pesquisa.

Ao finalizar, agradeço ao Luanzinho, que desde pequeno, sonhou! Obrigado minha criança, por acreditar no teu sonho!

*“O futuro pertence àqueles que acreditam
na beleza de seus sonhos.”*

Eleanor Roosevelt

RESUMO

O Transtorno Bipolar é uma condição do sistema nervoso central, caracterizado por mudanças de humor, alternando entre fases de depressão, mania e/ou de hipomania. Nesse estudo, o treinamento de força aparece como um potencial agente protetor para esse transtorno. Para isso, ratos Wistar machos adultos, foram submetidos a um protocolo de treinamento de força, e ao final do treinamento receberam uma única dose de ouabaína e então passaram por uma bateria de testes comportamentais. Após a eutanásia, o hipocampo foi coletado para análises bioquímicas de vias associadas à miogênese e neurogênese. Os resultados apresentados mostram que o treinamento de força protegeu contra alguns déficits comportamentais induzidos pela injeção de ouabaína, como aumento da atividade locomotora e de tomada de risco, agressividade e prejuízo na performance em testes de memória. O treinamento também protegeu contra a diminuição da ativação da via BDNF/ERK/CREB, associada a neurogênese, bem como, aumentou a ativação da via miogênica AKT/mTOR. A partir desses achados, fica evidente o efeito positivo do treinamento de força ao atenuar e/ou proteger contra déficits relacionados ao transtorno bipolar, com potencial terapêutico no auxílio do tratamento desses pacientes.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKT - Proteína quinase B;

AMPA - ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico;

AMPA - Receptor do tipo ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico;

BDNF - Fator neurotrófico derivado do cérebro;

CaMKII - Ca^{2+} /proteína quinase dependente de calmodulina;

cAMP - Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico;

CREB - Elemento de ligação responsiva ao cAMP;

DSM - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais;

ERK - Quinase regulada por sinal extracelular;

GSK-3 β - Glicogênio Sintase Quinase-3 beta;

IGF-1 - Fator de crescimento semelhante à insulina;

IGF-1R - Receptor do fator de crescimento semelhante à insulina;

LTP - Potencial de longa duração;

MAPK - Proteína quinase ativada por mitógeno;

mRNA - Ácido ribonucleico mensageiro;

mTOR - Proteína alvo da rapamicina em mamíferos;

NMDA - N-metil-D-aspartato;

NMDAR - Receptor do tipo N-metil-D-aspartato;

OUA - Ouabaína;

P70S6K - Proteína S6 ribossômica quinase;

Pi3K - Fosfatidil inositol-3 quinase;

PKC - Proteína Quinase C;

PLC - Fosfolipase-C;

SNC - Sistema nervoso central;

TB - Transtorno Bipolar;

TrkB - Receptor tirosina quinase-B.

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	23
PARTE I.....	24
2 REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1 Transtorno Bipolar	24
2.1.1 Histórico.....	24
2.1.2 Epidemiologia	25
2.1.3 Etiologia	25
2.1.4 Aspectos Clínicos	26
2.1.5 Dificuldades para o diagnóstico.....	29
2.1.6 Farmacoterapia.....	30
2.1.7 Cognição e Memória no Transtorno Bipolar.....	31
2.1.8 Modelos Experimentais	34
2.2 Exercício Físico	37
2.2.1 Treinamento de Força e via miogênica.....	38
2.2.2 Via Pi3K/AKT/mTOR e Neuroproteção	39
3 OBJETIVOS	41
3.1 Geral	41
3.2 Específicos	41
PARTE II.....	42
4 MANUSCRITO	42
Abstract	44
4.1 Introduction	45
4.2 Methods	45
4.2.1 Animals	46
4.2.2 Experimental design	47
4.2.3 Strength training protocol – Vertical Ladder	48
4.2.4 Surgical procedure and ouabain administration	49
4.2.5 Behavioral analysis	49
4.2.6 Biochemistry assays.....	52
4.2.7 Statistical analysis.....	54
4.3 Results	54
4.3.1 Progressive overload test	54
4.3.2 Behavioral analysis	55
4.3.3 Molecular analysis	61
4.4 Discussion	64
4.3.3 Limitations	68
4.3.3 Fundings.....	68
PARTE III.....	69
5. CONCLUSÕES	69
6. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	70
7. REFERÊNCIAS	71

1 APRESENTAÇÃO

Essa dissertação traz como proposta uma relação entre o transtorno bipolar e as implicações neuroquímicas e comportamentais desse transtorno nos pacientes e o treinamento de força como um potencial auxiliar na melhora da qualidade de vida dessas pessoas.

O texto está dividido em três sessões, sendo a primeira a “revisão bibliográfica”, que se detém em apresentar os principais conceitos necessários para o entendimento do transtorno bipolar e como essa condição afeta a vida do paciente a partir de alterações moleculares que vão resultar em déficits nos diversos âmbitos da vida. Além disso, essa sessão de revisão também aborda os efeitos do exercício físico nas vias bioquímicas que podem auxiliar na proteção contra alguns prejuízos neurológicos relacionados à neuroprogressão do transtorno bipolar.

Na sequência do trabalho, na parte II, é apresentado o manuscrito do artigo científico resultado de um estudo experimental pré-clínico, redigido em língua inglesa, intitulado “*Strength training attenuates behavioral and neurochemical changes in ouabain-induced bipolar disorder in rats*”, a ser submetido ao periódico “*Journal of Affective Disorders*”. O manuscrito apresenta os achados que demonstram os benefícios do exercício físico de força e seus possíveis mecanismos em um modelo de transtorno bipolar e seus déficits comportamentais e bioquímicos. O artigo está dividido em introdução, materiais e métodos, resultados, discussão e limitações do estudo.

Na última sessão do documento, a parte III, são apresentadas as conclusões, perspectivas futuras e, por fim, os materiais bibliográficos utilizados, seja para a revisão da literatura ou para a escrita do manuscrito.

PARTE I

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Transtorno Bipolar

2.1.1 Histórico

O Transtorno Bipolar (TB) é uma condição psiquiátrica que tem seus primeiros registros, antes até mesmo do entendimento dos dois “polos”, com o conceito de mania, de origem grega “*μανία*”, que significa loucura. Hipócrates, em seus estudos, já tentava classificar a mania como um subtipo de doença mental. Porém, somente no final do século XIX, Emil Kraepelin definiu o conceito de psicose maníaco-depressiva e dissociou esse termo do que hoje é conhecido como esquizofrenia e, nos anos 50, Karl Leonhard introduziu o conceito de “polaridade”, o que deu base para a inclusão no Manual Diagnóstico e Estatístico de doenças mentais (DSM IV) (BOSAIPO; BORGES; JURUENA, 2017; DEL-PORTO; DEL-PORTO, 2005). De acordo com esse manual, haveria pacientes unipolares, que manifestam apenas sintomas depressivos, mas também pacientes bipolares, com episódios de mania ou hipomania (LÓPEZ-MUÑOZ et al., 2018).

Atualmente, a primeira linha de tratamento para o TB ainda é o carbonato de lítio, e a descoberta do seu efeito antimaniaco foi feita pelo médico australiano John Frederick Cade em meados de 1950. Esse médico psiquiatra, após alguns experimentos envolvendo injeções em diferentes concentrações de urina de pacientes em mania ou depressão em cobaias, descobriu que o urato de lítio (uma substância mais fácil de solubilizar que o ácido úrico em si) protegeu os animais de uma convulsão que poderia levá-los a morte. Após alguns testes utilizando apenas o carbonato de lítio nas cobaias, o psiquiatra testou em si mesmo uma dose da fórmula para garantir que não haveria toxicidade antes de testar nos seus pacientes. Percebendo a ausência de toxicidade, ele passou a utilizar o composto com seus pacientes em mania e a melhora foi iminente, em poucos dias de tratamento os pacientes apresentavam um quadro de humor controlado (CADE, 1999; LÓPEZ-MUÑOZ et al., 2018).

2.1.2 Epidemiologia

A prevalência do TB, ou seja, o número de pacientes com TB em um determinado período e localização, ainda não é bem definida. Porém, uma estimativa comum para a população global é de 1 a 3% (PEDERSEN et al., 2014). Em um estudo feito em 14 países que considerou a prevalência ao longo da vida, estimou-se que entre pacientes com transtorno bipolar tipo 1 ou tipo 2, a prevalência é de aproximadamente 2,8% (SEEDAT et al., 2009). Já em outro estudo, que considerou separadamente os tipos principais do transtorno, a porcentagem foi de 0,6% para tipo 1, 0,4% para tipo 2 e 1,4% para outros tipos de TB (MERIKANGAS et al., 2011).

Em se tratando da diferença entre gêneros, uma pesquisa realizada em mais de 200 países e com mais de 20 milhões de pacientes com TB, considerando todos os subtipos do transtorno, não houve diferença entre os gêneros (GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS, 2022). Porém, analisando isoladamente, o TB tipo 1 não apresenta diferenças entre os gêneros, já o TB tipo 2 é mais prevalente em mulheres (BALDASSANO et al., 2005).

2.1.3 Etiologia

Muitos estudos buscam identificar a etiologia do TB, porém os resultados ainda são inconclusivos, mesmo assim existem diversas hipóteses que envolvem fatores genéticos, fisiológicos e sociais. Nesse sentido, o risco de TB para uma pessoa que tenha parentesco de primeiro grau com um paciente com o transtorno é de 5 a 10%. No caso de gêmeos monozigóticos, esse risco é de 40 a 70% (CRADDOCK; SKLAR, 2013). Ainda não foram identificados genes que possam estar diretamente relacionados com a fisiopatologia do TB, porém um dos genes estudados nessa linha de pesquisa, é o CACNA1C, que codifica um canal de cálcio dependente de voltagem envolvido na excitabilidade celular (FERREIRA et al., 2008). Em um estudo que buscou identificar as vias genéticas por onde pode se dar o desenvolvimento do TB, se destacaram os genes de regulação hormonal, principalmente do hormônio liberador de corticotrofina, de canais de cálcio, sistemas de segundos mensageiros e receptores de glutamato (NURNBERGER et al., 2014). Outro fator, também genético que pode estar relacionado com o risco de TB é a expressão genética, que é alterada em

pacientes com TB, com regulação negativa de genes associados a neuroplasticidade, síntese de neurotransmissores e receptores hormonais (AKULA et al., 2014; CRUCEANU et al., 2015).

No mesmo sentido, pesquisadores buscam encontrar biomarcadores que diminuam as dificuldades para o diagnóstico do TB. Um biomarcador bastante promissor é o dano oxidativo consistente nos pacientes (FREY et al., 2013). As pesquisas em pacientes com TB, encontraram dano oxidativo em proteínas, DNA, RNA e lipídeos, bem como desregulação em defesas antioxidantes (ANDREAZZA et al., 2008; FREY et al., 2013). Esse dano se dá a partir de uma disfunção na cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria, aumentando a produção de espécies reativas no processo de síntese do ATP (BROWN; ANDREAZZA; YOUNG, 2014). Marcadores biológicos que comprovam essa disfunção, como menor expressão de subunidades da cadeia transportadora de elétrons, aumento na mutação e deleção do DNA mitocondrial e diminuição em fosfatos de alta energia no cérebro já foram encontrados em pacientes com TB (CLAY; DAWS; KONRADI, 2011).

2.1.4 Aspectos Clínicos

O transtorno bipolar é caracterizado por alterações entre diferentes estados de humor, onde em um polo do transtorno está a mania e hipomania no outro a depressão (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Com base no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5), entre os principais sinais e sintomas dessas alterações no humor estão os distúrbios de sono, energia e comportamento além de disfunções cognitivas e dificuldades na interação social. A Associação Americana de Psiquiatria (2013) também separa o transtorno bipolar em diferentes subtipos (figura 1), com a manifestação de episódios de mania, sem a exigência de episódios hipomaniacos e ao menos um depressivo (tipo 1), também chamado de transtorno maníaco-depressivo no século XIX; apenas episódios de hipomania e depressão, sem manifestações de mania (tipo 2); ou ainda, oscilações mais frequentes e numerosas entre depressão e hipomania, em que o paciente não exceda o período de 2 meses sem nenhum sintoma (ciclotimia).

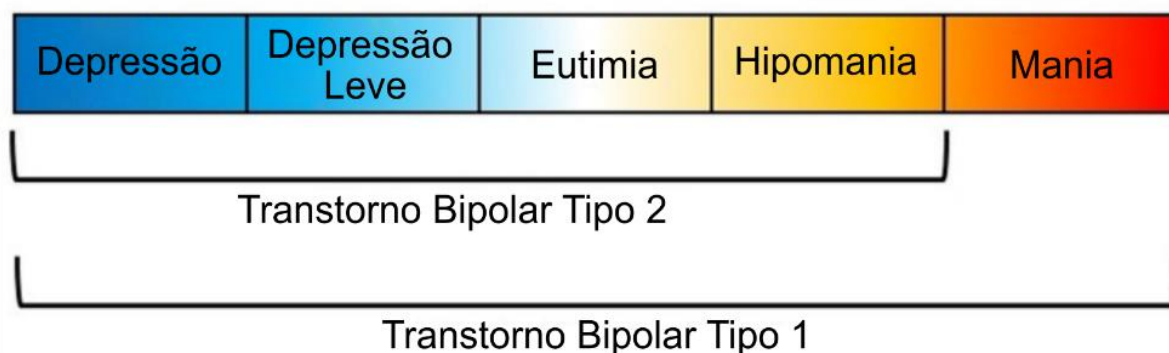


Figura 1 – Polaridade dos diferentes episódios em Transtorno Bipolar. Fonte: adaptado de (O'CONNELL; COOMBES, 2021).

2.1.4.1 Mania e Hipomania

Os sinais e sintomas das fases de mania e hipomania são semelhantes em se tratando de agitação psicomotora de maneira geral. Porém, as fases maníacas, segundo o DSM-V, têm duração mínima de uma semana e a alteração nos comportamentos são graves e podem causar muito prejuízo no funcionamento social e profissional do indivíduo. Algumas características da mania são o humor eufórico, desinibição, desrespeito aos limites sociais, gastos excessivos e busca incessante por satisfação/prazer e interação social (MITCHELL; LOO; GOULD, 2010). Além disso, durante a mania, são comuns também comportamentos impulsivos, empreendimentos fracos e/ou falhos, infidelidade e encontros sexuais com desconhecidos, atividades arriscadas, como direção imprudente e aumento da sensação de bem-estar e autoconfiança (ALMEIDA et al., 2013; AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Outro sintoma bastante específico de indivíduos maníacos é a diminuição da necessidade de sono, não associada à insônia, pois o paciente não apresenta sinais de cansaço ou sonolência, e pode ficar até dias sem dormir (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013; MITCHELL; LOO; GOULD, 2010).

A hipomania tem a característica de ser menos duradoura, com duração mínima de quatro dias consecutivos, e a alteração comportamental é menos acentuada comparada à mania, sem prejudicar diretamente a função social e profissional do paciente. A principal diferença entre a mania e hipomania é a consistência e estabilidade dos sintomas, sendo que na hipomania os sintomas são mais efêmeros/voláteis comparados aos sintomas da mania. Outra diferença

importante entre esses estados é a manifestação psicótica apenas nas fases maníacas, em que o paciente apresenta delírios, crenças falsas que não condizem com a sua cultura/religião, e alucinações, experiências sensoriais a partir de estímulos não reais que podem atingir qualquer um dos sentidos, principalmente a audição (SMITH; JOHNS; MITCHELL, 2017). Na Tabela 1 estão relacionados os comportamentos descritos pela Associação Americana de Psiquiatria (2013) para mania e hipomania, de forma a comparar com os comportamentos da fase depressiva.

2.1.4.2 Depressão Bipolar

Semelhante ao que pode ser encontrado em pacientes com depressão unipolar, os sintomas dos episódios depressivos do transtorno bipolar podem durar muitos meses e, em resumo, são caracterizados por humor deprimido, diminuição em atividades antes prazerosas ao paciente, energia diminuída e problemas de memória e concentração (GOODWIN; JAMISON, 2007; SERRA et al., 2019), sendo que na Tabela 1 estão relacionados esses e outros sinais e sintomas dos episódios de depressão seguindo o descrito no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais.

Além disso, é importante salientar outros fatores envolvidos com a depressão bipolar. Por exemplo, em comparação com os episódios de mania e hipomania, a frequência de episódios depressivos é mais elevada, e os episódios são mais prolongados, especialmente em pacientes com transtorno bipolar do tipo 2 (DE DIOS et al., 2010). Ademais, o risco de suicídio em pacientes com TB é mais elevado nos episódios de depressão (FIEDOROWICZ et al., 2019), principalmente em pessoas solteiras do sexo feminino (HAWTON et al., 2005; SCHAFFER et al., 2015).

Tabela 1 - Comparativo dos comportamentos das fases de mania e/ou hipomania e depressão maior conforme o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais

Mania e Hipomania	Depressão Bipolar
1. Autoestima inflada ou grandiosidade.	1. Humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias, conforme indicado por relato subjetivo (p. ex., sente-se triste, vazio ou sem esperança) ou por observação feita por outra pessoa (p. ex., parece choroso). (Nota: Em crianças e adolescentes, pode ser humor irritável.)
2. Redução da necessidade de sono (p. ex., sente-se descansado com apenas três horas de sono).	2. Acentuada diminuição de interesse ou prazer em todas, ou quase todas, as atividades na maior parte do dia, quase todos os dias (conforme indicado por relato subjetivo ou observação feita por outra pessoa).

3. Mais loquaz que o habitual ou pressão para continuar falando.	3. Perda ou ganho significativo de peso sem estar fazendo dieta (p. ex., mudança de mais de 5% do peso corporal em um mês) ou redução ou aumento no apetite quase todos os dias. (Nota: Em crianças, considerar o insucesso em obter o ganho de peso esperado.)
4. Fuga de ideias ou experiência subjetiva de que os pensamentos estão acelerados.	4. Insônia ou hipersonia quase diária.
5. Distratibilidade (i.e., a atenção é desviada muito facilmente por estímulos externos insignificantes ou irrelevantes), conforme relatado ou observado.	5. Agitação ou retardo psicomotor quase todos os dias (observável por outras pessoas; não meramente sensações subjetivas de inquietação ou de estar mais lento).
6. Aumento da atividade dirigida a objetivos (seja socialmente, no trabalho ou escola, seja sexualmente) ou agitação psicomotora (i.e., atividade sem propósito não dirigida a objetivos).	6. Fadiga ou perda de energia quase todos os dias.
7. Envolvimento excessivo em atividades com elevado potencial para consequências dolorosas (p. ex., envolvimento em surtos desenfreados de compras, indiscrições sexuais ou investimentos financeiros insensatos).	7. Sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inapropriada (que podem ser delirantes) quase todos os dias (não meramente autorrecriação ou culpa por estar doente).
	8. Capacidade diminuída para pensar ou se concentrar, ou indecisão quase todos os dias (por relato subjetivo ou observação feita por outra pessoa).
	9. Pensamentos recorrentes de morte (não somente medo de morrer), ideação suicida recorrente sem um plano específico, tentativa de suicídio ou plano específico para cometer suicídio

2.1.4.3 Episódios Mistos

Além dos episódios de mania, hipomania e depressão, com seus sinais e sintomas específicos, existem momentos conhecidos como episódios mistos, caracterizados por manifestações de sintomas do polo oposto do episódio em que o paciente se encontra (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013), ou seja, no caso de pacientes em estados de mania/hipomania, manifestações depressivas, ou o contrário. A problemática dos episódios mistos é que, comparado a pacientes sem essa característica, existe um aumento no desenvolvimento de transtornos de ansiedade ou dependência de substâncias químicas e a resposta positiva ao tratamento farmacológico é menor nesses pacientes (SOLOMON et al., 2010; SWANN et al., 2013).

2.1.5 Dificuldades para o diagnóstico

Para além das dificuldades que envolvem o TB em si, como as questões de interação social ou até mesmo envolvidas na fisiopatologia do transtorno, ainda existe a dificuldade, dentro da comunidade médica, em diagnosticar de maneira efetiva e indicar o tratamento adequado aos pacientes (PHILLIPS; KUPFER, 2013). Alguns estudos indicam que apenas 20% dos pacientes com TB são diagnosticados no primeiro ano da manifestação dos sintomas, e existe uma lacuna de 5 a 10 anos para o diagnóstico e início do tratamento da maioria dos pacientes, esse período envolve acompanhamento dos sinais e sintomas para identificação dos episódios do TB (BALDESSARINI et al., 2007; HIRSCHFELD; LEWIS; VORNIK, 2003). Essa dificuldade se dá por diversos fatores, como a possibilidade de confusão entre o TB e a Depressão Maior, principalmente no TB tipo 2 onde o paciente não apresenta mania, e as fases depressivas do TB, além ser o primeiro estado manifestado, tendem a ser mais extensas, e os pacientes podem passar mais tempo da vida em depressão comparado a mania/hipomania (JUDD et al., 2003).

Outro fator que pode aumentar ainda mais a dificuldade de um diagnóstico preciso para a doença são os episódios mistos que, como falado anteriormente, são situações do TB onde o paciente manifesta sintomas opostos ao estado atual (PHILLIPS; KUPFER, 2013), que apresenta uma nova visão do TB, indicando uma ruptura da ideia tradicional de episódios isolados e bem definidos (MARNEROS, 2001).

2.1.6 Farmacoterapia

Entre os principais fármacos utilizados para o tratamento do TB, o lítio é o tratamento de primeira linha, principalmente em pacientes em mania e na manutenção do transtorno, visto que já é descrita sua função em regular o humor e reduzir o risco de suicídio em pacientes com TB (CIPRIANI et al., 2013a; FOUNTOULAKIS; TOHEN; ZARATE, 2022; MALHI; GESSLER; OUTHRED, 2017). O lítio é absorvido principalmente no trato gastrointestinal e excretado principalmente pelos rins com meia vida de aproximadamente 24 horas (METHANEETHORN, 2018).

O mecanismo de ação do lítio ainda é desconhecido, mas existem algumas hipóteses sobre sua ação. O principal mecanismo sugerido desse composto é a estimulação da liberação de neurotransmissores inibitórios e inibição da liberação de

neurotransmissores excitatórios, visto que uma das hipóteses do TB é a hiperexcitação do paciente, ou seja, maior suscetibilidade à estímulos excitatórios (MALHI; OUTHRED, 2016). Outras hipóteses envolvem a inibição da enzima glicogênio sintase quinase-3 beta (GSK-3 β) que estimula um peptídeo de sinalização intracelular ou uma super ativação da via da proteína quinase C (PKC) (MALHI; OUTHRED, 2016; STERN et al., 2018; ZARATE; MANJI, 2009). Atualmente, já se sabe que o lítio apresenta fatores neuroprotetores em pacientes com TB, prevenindo a diminuição e, em alguns casos, aumentando estruturas como tálamo, hipotálamo e matéria cinzenta (HAJEK et al., 2012; LÓPEZ-JARAMILLO et al., 2017; LYOO et al., 2010).

O consumo excessivo de lítio, bem como outras drogas amplamente utilizadas, pode causar intoxicação, levando o paciente a diversas disfunções metabólicas, principalmente tendo em vista que a janela terapêutica do lítio é bastante estreita (GITLIN, 2016). Porém, mesmo em concentrações mais baixas, que estejam dentro da janela terapêutica do lítio, existem alguns efeitos adversos que podem estar associados com a sua toxicidade, como náusea, poliúria, polidipsia, tremor e em alguns casos danos cognitivos (GRANDJEAN; AUBRY, 2009).

Buscando uma alternativa para o tratamento com lítio, tendo em vista os seus efeitos adversos e o fato de que 20-40% dos pacientes não apresentam resposta ao tratamento, outros fármacos são utilizados para a manutenção do TB (CIPRIANI et al., 2013b). Entre eles os principais são: valproato (ácido valpróico ou divalproex), tem efeito principalmente na prevenção dos episódios de mania e/ou depressão (CIPRIANI et al., 2013b); e quetiapina, que age atrasando o aparecimento de novos episódios (WEISLER et al., 2011).

Além disso, outros fármacos, além do lítio, são utilizados para o tratamento dos pacientes durante os episódios. Na mania, o tratamento normalmente envolve o lítio ou valproato associado a algum antipsicótico, como olanzapina ou haloperidol (FOUNTOULAKIS et al., 2016). No mesmo sentido, o tratamento para depressão bipolar em geral inclui a quetiapina, e em caso de ineficácia, é possível uma combinação de olanzapina e fluoxetina, ou uma adição do valproato (BOBO, 2017).

2.1.7 Cognição e Memória no Transtorno Bipolar

Além das oscilações no estado de humor, os pacientes com TB também convivem com prejuízos na função cognitiva, como déficits de atenção, declínio da memória verbal, dano na função executiva, principalmente dificuldades de planejamento, e redução na velocidade no processamento de informações (BORA; YUCEL; PANTELIS, 2009). Esses déficits cognitivos podem ser apresentados em todas as fases do TB, incluindo a eutimia, sendo a memória verbal e a função executiva os principais aspectos danificados (KERAMATIAN; TORRES; YATHAM, 2021), e a maioria têm início após o primeiro episódio maníaco (BORA; PANTELIS, 2015). A intensidade dos danos pode ser influenciada por diversos fatores, entre eles a quantidade de episódios de mania e psicose, visto que quanto maior o histórico desses eventos, mais evidenciado é o dano (BORA, 2018). Outro fator de influência é o tipo de TB, onde pacientes TB tipo 1 tendem a ter mais dificuldades em testes de memória que pacientes TB tipo 2 (BORA, 2018).

Diversas hipóteses buscam explicar a origem desses prejuízos cognitivos no TB, e mesmo que a fisiopatologia do transtorno não esteja bem estabelecida, algumas destas sugerem uma desregulação de fatores inflamatórios, oxidantes e neurotróficos (BERK et al., 2011; LIN et al., 2016; VAN RHEENEN et al., 2020). Essa desregulação danifica a neuroplasticidade, altera os níveis de monoaminas, superativa a micróglia e desregula o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, o que potencialmente prejudica a cognição (MISIAK et al., 2018; ROSENBLAT et al., 2015).

Além disso, a desregulação em processos inflamatórios e expressão de neurotrofinas, como BDNF, se relaciona com a redução no volume de estruturas do SNC, principalmente hipocampo e córtex pré-frontal (HIBAR et al., 2016; MONDELLI et al., 2011). Além disso, a redução do volume cerebral, assim como a intensidade dos danos cognitivos, também está associada com episódios de mania, visto que pacientes que tiveram pelo menos um episódio de mania tem mais redução de córtex pré-frontal em comparação a pacientes que passaram apenas por episódios de depressão (ABÉ et al., 2015).

2.1.7.1 Bases neuroquímicas da memória

No final dos anos 40, Donald O. Hebb propôs uma regra básica para os mecanismos fisiológicos da formação da memória, essa regra diz que duas células,

ou sistemas celulares, que sejam repetitivamente ativados ao mesmo tempo tendem a ser associadas, aumentando a eficiência dessas transmissões sinápticas, dessa forma, quando uma dessas células for ativada, facilmente a outra também será ativada, formando uma rede (HEBB, 1949; KEYSERS; GAZZOLA, 2014). Esse aumento na eficiência das transmissões sinápticas é chamado LTP, do inglês *long-term potentiation*, ou potencial de longa duração, e é ativado por estímulo excitatórios (BLISS; COLLINGRIDGE, 1993). O LTP pode ser dividido em três fases, e são elas: a indução, evento que dá o “gatilho” para o LTP em resposta a um estímulo excitatório; a manutenção, para a persistência desse potencial a partir de alterações bioquímicas na célula; e por final, a expressão, onde ocorrem mudanças celulares duradouras na célula, partindo das alterações bioquímicas iniciais (SWEATT, 1999).

Um dos principais mecanismos estudados a respeito da indução do LTP é através dos receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) (NMDAR), responsivos principalmente ao neurotransmissor glutamato, principal neurotransmissor excitatório (figura 2). Essa ativação mediada pelos NMDAR, causa um influxo de cálcio para o meio intracelular, ativando as enzimas Ca^{2+} /proteína quinase dependente de calmodulina II (CaMKII) e proteína quinase C (PKC), que são cruciais para a fase inicial do LTP (ou *early LTP* - E-LTP) (BLISS; COLLINGRIDGE, 1993). Uma vez ativadas essas enzimas, tornam-se ativas de forma autônoma e sinalizam outras proteínas, como receptores de AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico) e mais NMDAR, que se deslocam para a membrana celular, potencializando a manutenção do E-LTP (LAU; ZUKIN, 2007; MALENKA, 2003).

A persistência do E-LTP, fase inicial do LTP, dá início ao L-LTP (ou late LTP), iniciando o processo de transcrição gênica e síntese de proteínas. É importante salientar que durante o E-LTP não há transcrição gênica, visto que é uma fase transitória (SWEATT, 1999). As proteínas intracelulares CaMKII, PKC e ERK (quinase regulada por sinal extracelular) ativam fatores de transcrição nucleares, principalmente o elemento de ligação responsiva ao cAMP (CREB), que dá início ao processo de síntese das proteínas base para a manutenção do LTP, remodelando as sinapses envolvidas.

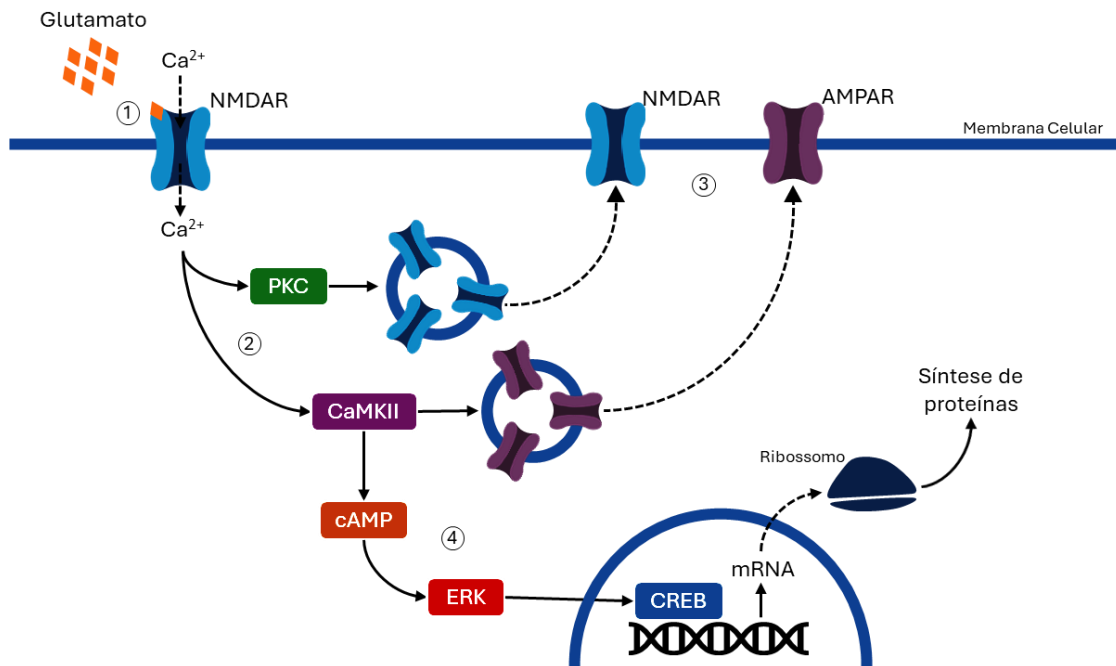


Figura 2 – Indução de LTP através da ativação de receptor NMDA. A figura demonstra a via de ativação de um potencial de longa duração (LTP) através da ativação do receptor N-metil-D-aspartato (NMDAR) por glutamato (1), aumentando o influxo intracelular de cálcio (Ca²⁺). Esse influxo de Ca²⁺ ativa a proteína quinase C (PKC) e Ca²⁺/proteína quinase dependente de calmodulina II (CaMKII) (2), que a partir de uma autofosforilação, realizam a translocação de NMDAR e receptores de ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico (AMPA) para a membrana celular (3). Além disso, CaMKII também ativa o AMP cíclico (cAMP) (4), fosforilando a proteína quinase regulada por sinal extracelular (ERK) que ativa, dentro do núcleo, o elemento de ligação responsiva ao cAMP (CREB), iniciando o processo de transcrição de RNA mensageiro (mRNA) para síntese de proteínas no ribossomo. Fonte: elaborado pelo autor.

Alguns estudos indicam a relação entre o LTP e o BDNF, mostrando que diminuições em BDNF ou o bloqueio na ligação com TrkB prejudicam a magnitude do E-LTP e a manutenção do L-LTP, visto que o BDNF pode melhorar a capacidade sináptica (FIGUROV et al., 1996; KORTE et al., 1995, 1998; MINICHIELLO, 2009). A partir disso, já foi discutido o fato de pacientes com TB têm prejuízos cognitivos que podem estar relacionados à redução nos níveis de BDNF em comparação a indivíduos saudáveis (AAS et al., 2019; CHIOU; HUANG, 2019; HUANG et al., 2012; LIN et al., 2016, p. 201; MORA et al., 2019). O BDNF ativa diversas cascatas de sinalização intracelular, como ERK/MAPK e PI3K/Akt, que também ativam CREB no núcleo, que dá início ao processo de síntese de proteínas relacionadas à função neuronal e neuroplasticidade (CALLAGHAN; KELLY, 2012; LU; NAGAPPAN; LU, 2015; SHENGKAI; QIANQIAN; YAZHEN, 2021).

2.1.8 Modelos Experimentais

Para melhor entendimento das características fisiopatológicas do TB, diversos estudos são feitos nos âmbitos clínicos e pré-clínicos, utilizando modelos experimentais para tal. A pesquisa de base teve como foco principal a fase maníaca do transtorno, visto que esta, ainda hoje, é essencial para o diagnóstico e talvez o estágio que mais traz dúvidas aos pesquisadores. Para isso, alguns modelos de indução à mania, ou comportamentos semelhantes a mania, foram idealizados para pesquisas em roedores, podendo ser via modulações genéticas, estresses ambientais ou induções farmacológicas (LOGAN; MCCLUNG, 2016).

Durante muitos anos, o modelo de indução por anfetamina foi considerado “padrão ouro” para mimetizar comportamentos maníacos em ratos (GOULD; KEITH; BHAT, 2001), pois, aumenta o padrão exploratório do animal e o valproato, estabilizador de humor comum no tratamento do TB, reverte esse quadro (ARENT et al., 2011). Além disso, um fator importante desse modelo, é o dano cognitivo e diminuição dos níveis de BDNF (FRIES et al., 2015), quadro comum em pacientes com TB, principalmente após uma manifestação de mania (BORA, 2018).

Existem diversos modelos utilizando da manipulação genética para manifestações dos comportamentos semelhantes à mania, como a mutação do gene ATP1A3, que codifica a isoforma $\alpha 3$ da enzima Na^+, K^+ -ATPase, específica de neurônios (CLAPCOTE et al., 2009). Essa mutação causa uma disfunção na enzima, que aumenta o padrão locomotor/exploratório dos animais e pode ser revertido através dos fármacos convencionais para o tratamento do TB, lítio e valproato (KIRSHENBAUM et al., 2012).

Os fatores de estresse ambiental podem ser um gatilho para a manifestação de episódios de mania em pacientes com TB, como a privação do sono ou distúrbios no ciclo circadiano (MCCLUNG, 2007). Pensando nisso, desenvolveu-se o modelo de privação do sono em roedores para desenvolvimento de comportamentos semelhantes à mania, como aumento da atividade locomotora/exploratória, comportamento agressivo, aumento da atividade sexual e tomadas de risco, além de diminuir os níveis de BDNF também (GESSA et al., 1995).

2.1.8.1 Ouabaína

A ouabaína (OUA) é um composto da família dos digitálicos cardíacos, capaz de inibir a atividade da enzima $\text{Na}^+,\text{K}^+\text{-ATPase}$, que quando administrada via intracerebroventricular (ICV) por El-Mallakh (1995) foi capaz de induzir comportamentos semelhantes à mania, principalmente hiperatividade (EL-MALLAKH et al., 1995; JORNADA et al., 2010; RIEGEL et al., 2009).

Esse modelo foi posteriormente validado por Valvassori (2019), mostrando que, além de induzir comportamentos semelhantes à mania, como hiperatividade e tomadas de risco, até o sétimo dia após a infusão, no 14º dia os mesmos animais apresentaram comportamentos do tipo depressivo, tanto no teste de nado forçado quanto no teste de consumo de alimento doce, demonstrando a validade de face do modelo, onde o animal apresentou os sinais e/ou sintomas comuns do TB (VALVASSORI et al., 2019). Além disso, a validade de construção também foi confirmada, visto que algumas características fisiopatológicas do TB também foram manifestadas em ambas as fases do modelo, como uma redução na atividade enzimática da $\text{Na}^+,\text{K}^+\text{-ATPase}$, altos índices do hormônio adrenocorticotrófico e corticosterona (hormônios relacionados ao estresse), e aumento em parâmetros de estresse oxidativo em córtex cerebral e hipocampo (VALVASSORI et al., 2019). Por fim, o lítio, fármaco comum utilizado para o tratamento do TB, teve efeito em diversos parâmetros do modelo, comportamentais e bioquímicos, confirmando a validade preditiva do modelo (VALVASSORI et al., 2019). As três validades descritas estão representadas na figura 3.

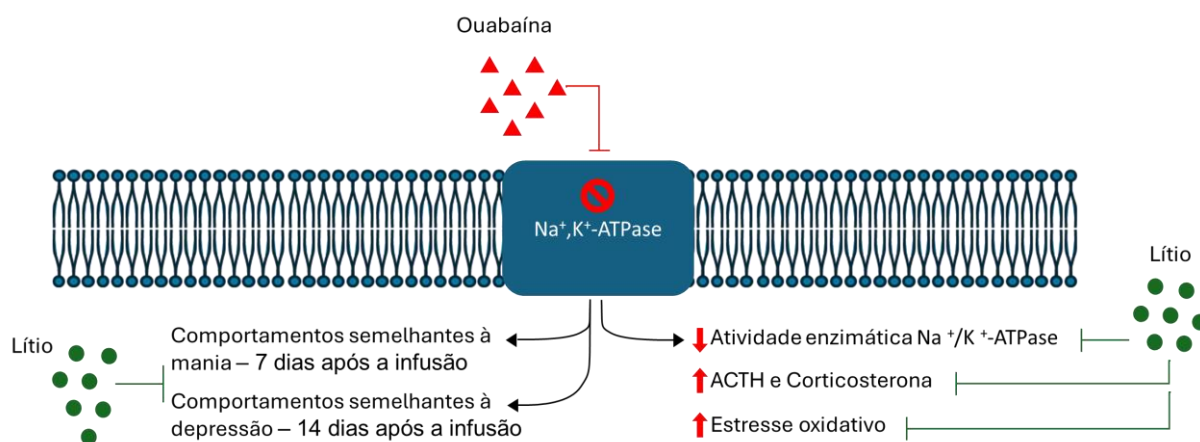


Figura 3 – Indução do modelo de Transtorno Bipolar através da inibição da enzima $\text{Na}^+,\text{K}^+\text{-ATPase}$ com ouabaína. A figura mostra a enzima $\text{Na}^+,\text{K}^+\text{-ATPase}$ sendo inibida pela ouabaína, diminuindo sua atividade catalítica, aumentando biomarcadores associados ao estresse e parâmetros

de estresse oxidativo. Essa inibição, após uma única administração do glicosídeo cardíaco via intracerebroventricular, induz comportamentos semelhantes à mania após sete dias da injeção e depressivos após 14 dias. Todos esses efeitos da inibição foram atenuados ou revertidos com o uso do Lítio. Fonte: elaborado pelo autor.

Além dos supracitados, outros estudos mostraram diversos outros parâmetros manifestados pela infusão de ouabaína que se aproximam dos sinais e/ou sintomas vistos nas análises clínicas do TB. Por exemplo, animais que receberam uma única dose de OUA apresentaram prejuízo na memória e redução nos níveis de BDNF, TrkB e CREB, ambos associados ao processo de consolidação da memória (VALVASSORI et al., 2021).

2.2 Exercício Físico

Há muito tempo vem sendo evidenciado o efeito positivo do exercício físico na saúde em geral, principalmente na manutenção das funções metabólicas e cardiovasculares (FAGARD; CORNELISSEN, 2007; SLENTZ et al., 2005; SOUZA-PEREIRA et al., 2024). Nesse mesmo sentido, o papel do EF no SNC também já é bem estabelecido, seja em doenças ou transtornos do SNC ou no auxílio de funções neurológicas/cognitivas (PEDERSEN; SALTIN, 2015; RAMBO et al., 2009; ROGGE et al., 2017). Essa função neuroprotetora do EF pode estar associada a diversos efeitos da prática regular, ou treinamento físico, como redução da inflamação; estimulação da síntese e liberação de fatores de crescimento; melhora da memória e aprendizagem; e manutenção da saúde das células em geral (MAHALAKSHMI et al., 2020).

Em modelos experimentais, o treinamento físico, ou seja, a prática regular de exercício físico, teve seu efeito comprovado diversas vezes. Por exemplo, em estudos sobre a fisiopatologia da epilepsia, o treinamento aeróbico de natação diminuiu o tempo de convulsão dos roedores submetidos ao modelo, e reduziu parâmetros associados ao estresse oxidativo e preveniu a inibição da enzima Na^+, K^+ -ATPase (RAMBO et al., 2009; SOUZA et al., 2009). Em outros estudos sobre os possíveis mecanismos da doença de Alzheimer, o treinamento aeróbico de esteira protegeu o hipocampo dos animais do dano oxidativo e inflamatório e preservou as funções do metabolismo energético dessa estrutura (LU et al., 2017). Sobre os efeitos do treinamento físico na memória, o treinamento aeróbico de esteira melhorou déficits de

memória de curta e longa duração em um estudo utilizando um protocolo de privação materna em ratos (NEVES et al., 2015).

Contudo, não somente o treinamento aeróbico promove esses benefícios, mas também o treinamento de força. Melhoras na capacidade cognitiva foram analisadas em um estudo utilizando um protocolo de treinamento de força em ratos, além de aumento em biomarcadores envolvidos na neuroplasticidade e defesas anti-inflamatórias (SERRA et al., 2022). O treinamento de força em humanos promove, por diversas vias sinérgicas, uma regulação no estado REDOX, reduzindo a síntese de espécies reativas e aumentando a capacidade antioxidante das células através da sinalização para a produção de enzimas antioxidantes e cofatores importantes para essa regulação (PINHO; AGUIAR; RADÁK, 2019). Essa regulação do estado redox somado ao aumento da produção de BDNF induzido pelo treinamento de força, além de promover um efeito de neuroproteção, aumenta a neuroplasticidade e por consequência melhora a cognição (NOVAES GOMES et al., 2014; PINHO; AGUIAR; RADÁK, 2019; VILELA et al., 2017).

2.2.1 Treinamento de Força e via miogênica

O treinamento de força, ou seja, um programa de exercício físico onde o foco é o aumento da força máxima que o grupo muscular pode gerar, induz alterações celulares em nível muscular e sistema nervoso que promovem o ganho de força. Essas alterações no sistema nervoso se dão por uma especialização na capacidade de recrutamento de unidades motoras e aumento na velocidade e sincronia dos disparos do neurônio motor na junção neuromuscular. Além dessa alteração neural, existe uma sinalização intracelular nas fibras musculares que induz hipertrofia, através de um processo de síntese de proteínas que compõem a unidade contrátil do músculo, aumentando a capacidade desse músculo de produzir força (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2015; POWERS, 2017).

O estímulo mecânico provocado pelo processo de contração muscular durante uma sessão de treino de força induz a síntese do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) que ao reagir com o seu receptor (IGF-1R) incia uma ativação sucessiva de fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K), proteína quinase B (PKB/AKT) e a proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) (EGERMAN; GLASS, 2014;

POWERS, 2017). O produto dessa cascata de fosforilação é a ativação da proteína S6 ribossômica quinase (P70S6K), uma enzima quinase que ativa a proteína S6 no ribossomo melhorando a eficiência de síntese de proteínas (ZANCHI; LANCHA, 2008).

2.2.2 Via Pi3K/AKT/mTOR e Neuroproteção

Além da promoção de hipertrofia e ganho de força discutidos no tópico anterior, a via Pi3K/AKT/mTOR também tem um papel importante nas estratégias de proteção ao SNC a partir da produção de fatores de crescimento que promovem a neuroplasticidade, auxiliando na resiliência do SNC, isto é, a capacidade do SNC de adaptação a condições de estresse (PINHO; AGUIAR; RADÁK, 2019). O fator de crescimento mais estudado atualmente é o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF).

A ativação dessa via de miogênese no músculo esquelético durante o treinamento de força induz a secreção de BDNF, que por sua vez se liga ao seu receptor TrkB na membrana celular no SNC e ativa diversas vias intracelulares importantes para a função e sobrevivência da célula, como ERK/CREB e fosfolipase C (PLC)/CamKII/CREB, ambas relacionadas com a cognição e plasticidade sináptica, ou até mesmo a via da PI3K/AKT/mTOR (PINHO; AGUIAR; RADÁK, 2019). A liberação de BDNF na corrente sanguínea e posterior ligação ao TrkB na membrana ativa um fator nuclear (Nrf2) que regula a expressão de agentes antioxidantes e anti-inflamatórios para a proteção da função de neurônios e demais células gliais (SANDBERG et al., 2014). Essa sinalização está representada na figura 4.

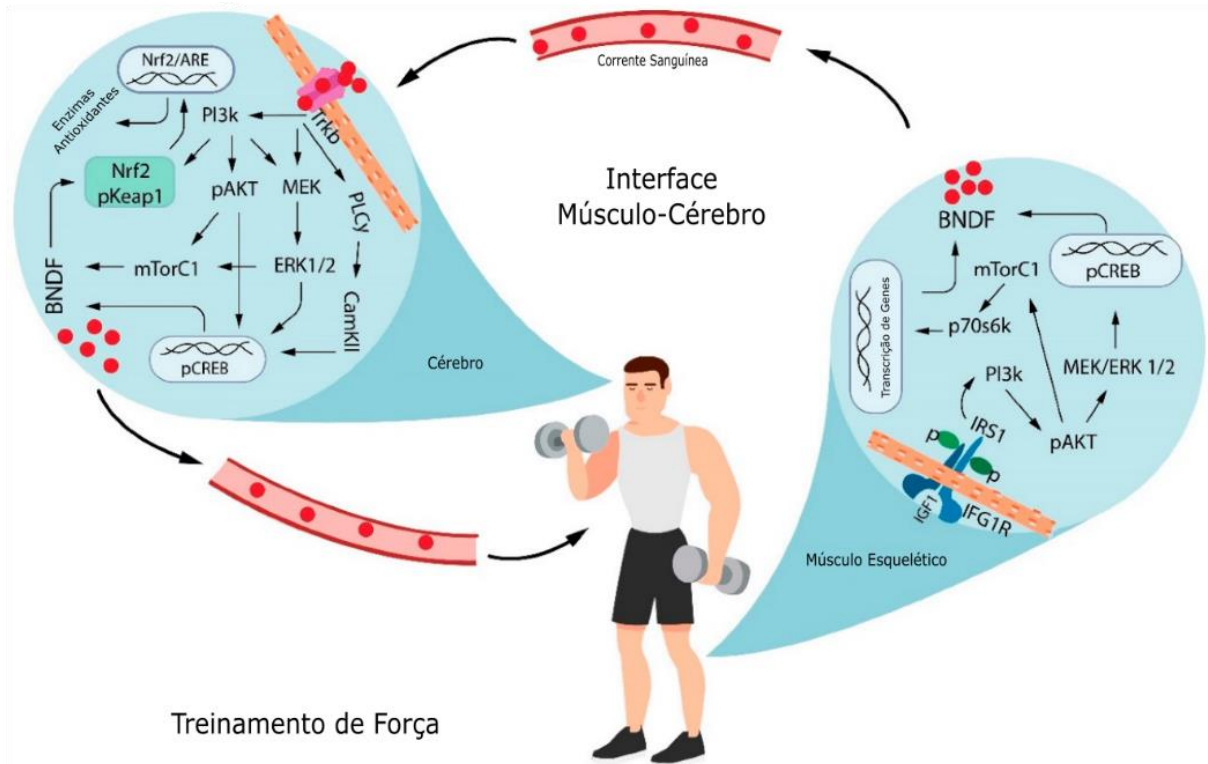


Figura 4 – Interface Músculo-Cérebro. A figura demonstra as vias na fibra muscular ativadas pelo treinamento de força para a produção de diversos fatores de crescimento, entre eles BDNF que, no neurônio, através do seu receptor TrkB faz a fosforilação de três vias principais relacionadas com a cognição e memória. Adaptado de PINHO; AGUIAR; RADÁK, 2019.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Analisar os efeitos do treinamento de força em déficits comportamentais e cognitivos e em vias bioquímicas em um modelo animal de TB.

3.2 Específicos

- Avaliar os efeitos do exercício físico de força em parâmetros de locomoção, ansiedade, agressividade e motricidade em um modelo de TB;
- Avaliar o desempenho de animais treinados em testes de memória espacial e reconhecimento após a administração de uma dose de OUA;
- Avaliar a expressão das proteínas das vias BDNF/TrkB/ERK/CREB e PI3K/Akt/mTOR após a administração de OUA em ratos treinados.

PARTE II

4 MANUSCRITO

Os tópicos a seguir estão em formato manuscrito de artigo científico em língua inglesa submetidos à revista *Bipolar Disorders*.

Strength training attenuates ouabain-induced bipolar disorder-related behaviors and memory deficits in rats: involvement of hippocampal ERK/CREB and PI3K/AKT/mTOR pathways

Luan Machado Maidana^a; Jozyê Milena da Silva Guerra^a; Adson de Souza Pereira^a; Marizabel Parente Lins^a; Mayckel Jean Moreira Silva^a; Eduarda Goulart Paiva^a; Douglas Buchmann Godinho^b; Luis Fernando Freira Royes^b; Leonardo Magno Rambo^{*a}.

^aBiochemistry Graduate Program, Federal University of Pampa, Uruguaiana, RS, Brazil.

^bDepartment of Methods and Sportive Techniques, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil.

*Corresponding author: Dr. Leonardo Magno Rambo

Biochemistry Graduate Program, Federal University of Pampa, 97500-970, Uruguaiana, RS, Brazil.

E-mail: leonardorambo@unipampa.edu.br

Abstract

Background: Bipolar disorder (BD) is a central nervous system condition that is typified by fluctuations in mood, oscillating between depressive and manic, and/or hypomanic episodes. The objective of this study was to test the hypothesis that strength training may act as a potent protector against behavioral and neurochemical changes induced by BD.

Methods: A strength training protocol was performed with adult male Wistar rats, and seven days following the conclusion of training, a single ouabain injection was administered. Following ouabain administration, the animals were subjected to behavioral tests after the seventh (manic period) and fourteenth (depressive period) days. Subsequently, rats were euthanized and the hippocampus was collected for western blotting assays.

Results: We demonstrated that strength training provided protection against ouabain-induced behavioral changes, both during the manic and depressive periods, including increased locomotor activity, risk-taking and aggressive-like behaviors, and impaired memory performance. Furthermore, physical training protected against ouabain-induced decrease of neurogenesis/neuroplasticity-related pathways, including BDNF/TrkB/ERK/CREB and PI3K/AKT/mTOR/p70S6K.

Conclusion: These findings suggest that strength training has a protective effect, attenuating or preventing BD-induced deficits, and may have therapeutic potential as an adjuvant treatment for this patient population.

Keywords: Resistance exercise; myogenic pathway; mania; depression; aggressiveness; anxiety-like behavior.

4.1 Introduction

Bipolar disorder (BD) is a central nervous system (CNS) disorder defined by mood swings that affects approximately 1-2% of the world's population, with an unknown pathophysiology (CLEMENTE et al., 2015). Mood fluctuates between mania, depression, mixed episodes, and euthymia. Mania is characterized by elevated mood, irritability, and risk-taking behavior, and depression includes sadness, anhedonia, sleep disturbances, and suicidal ideation (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). In addition, memory and cognitive deficits are common in BD patients and in the pharmacological model of BD induced by ouabain (OUA) (VALVASSORI et al., 2021). In this regard, it has been shown that patients with BD have reduced serum levels of BDNF protein and mRNA (LIN et al., 2016). Similarly, animals subjected to the OUA model show decreased expression of important biomarkers involved in the memory acquisition and consolidation process, namely BDNF/TrkB/CREB (VALVASSORI et al., 2021). An important factor that may significantly contribute to cognitive impairment is the neuronal loss associated with BD, mainly due to manic episodes (ABÉ et al., 2015).

The treatment and management of BD is complex due to the large variability between individuals and between events in the same individual (GOES, 2023). The first-line treatment for BD is lithium (Li), a potent mood stabilizer that can prevent or ameliorate the occurrence of manic and depressive episodes (FOUNTOULAKIS; TOHEN; ZARATE, 2022). However, Li treatment has significant side effects, such as tremors and nausea, as well as impaired renal function (SHUY et al., 2024). Nevertheless, even with the wide range of medications currently available, 20-40% of patients do not respond satisfactorily to treatment (SHUY et al., 2024). Given the relatively low effectiveness of treatments and the impact on the lives of individuals, studies aimed at identifying putative adjuvant strategies that may contribute to or enhance the effectiveness of conventional treatments may improve the overall quality of life of individuals with BD and their families.

Physical exercise is a strategy widely used as an adjuvant in a diversity of peripheral and central conditions, mainly due to its well-known antioxidant and anti-inflammatory properties promoting cardiovascular benefits, in addition to its neuroprotective effect in diseases such as Alzheimer's, epilepsy, Parkinson's, as well

as in several neuropsychiatric dysfunctions, possibly for its action in stimulating neurogenesis, neuroplasticity and neuroimmunology (RADAK et al., 2016). In addition, physical training improves work memory and attenuates cognitive deficits in patients with neurological disorders by attenuating neuroinflammation and increasing the BDNF/TrkB/ERK1/2/CREB pathway (RADAK et al., 2016).

Despite the numerous findings on the effects of aerobic exercise, there are few studies showing the effects of strength training on psychiatric disorders, and according to our search, there are no studies showing the effects of strength training on BD in either humans or animals. Strength training specifically activates PI3K/AKT/mTOR/P70S6K in skeletal muscle and promotes myogenic signaling (EGERMAN; GLASS, 2014). To the best of our knowledge, there is no study showing whether strength training increases the PI3K/AKT/mTOR/P70S6K pathway in the hippocampus, and if this hypothesis is true, it seems reasonable to suggest that strength training may have the capacity to modulate BD and its consequences, since this pathway has been considered an important target for the treatment of psychiatric disorders (CHEN et al., 2024). In addition, activation of the PI3K/AKT/mTOR/p70S6K pathway has been shown to promote inhibition of GSK-3 β , an important target involved in mood disorders such as BD and schizophrenia (JOPE; ROH, 2006). Curiously, Li acts as a GSK-3 β inhibitor, reinforcing the role of inhibition of this enzyme in the control of mood disorders (FRELAND; BEAULIEU, 2012). The animal model of OUA-induced BD is triggered by Na⁺/K⁺-ATPase inhibition and induces manic and depressive-like behaviors and molecular changes well identified in BD patients, such as oxidative stress, neuroinflammation, and GSK-3 β activation (EL-MALLAKH et al., 1995; VALVASSORI et al., 2017, 2019). Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of strength training on behavioral and neurochemical changes in OUA-induced BD.

4.2 Methods

4.2.1 Animals

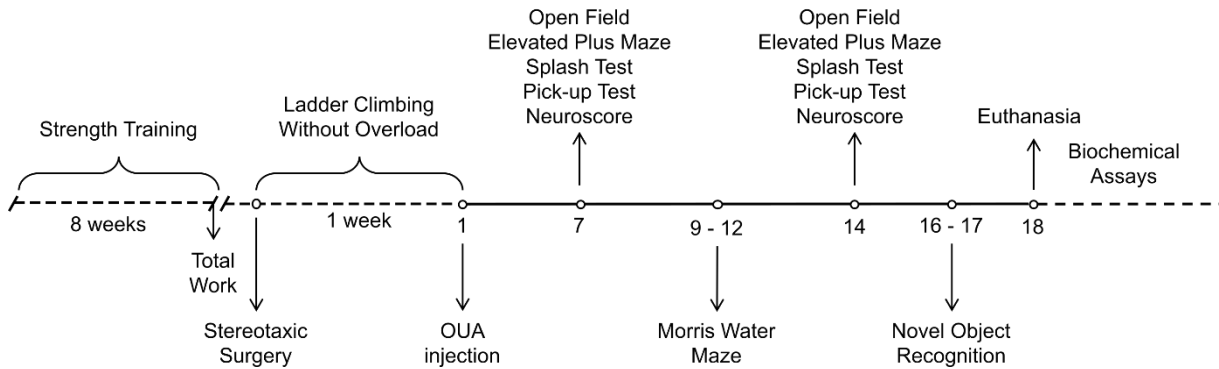
Adult male Wistar rats (n=48), 60 days old, were randomly divided in four experimental groups, maintained three per cage in controlled conditions (temperature:

22°C; relative humidity: 45:55%) in a light/dark cycle (12h/12h), with food and water *ad libitum*. The animals were obtained in the Animal Bioterium of the Federal University of Pampa (UNIPAMPA). All experimental procedures were conducted in accordance with the policies of the National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th edition) and were approved by institutional ethic committee (#016/2023). All efforts were made to reduce the number of animals used, as well as to minimize their suffering.

4.2.2 Experimental design

Animals were randomly divided in four experimental groups: Sedentary + aCSF; Exercise + aCSF; Sedentary + OUA; Exercise + OUA. The experimental timeline is presented in figure 1. In the last day of the eight weeks of ladder strength training, animals were submitted to progressive workload test to ensure that the physical training has promoted the adaptations expected by the specificity of strength training, which is the increase in the capacity to support an overload. Animals underwent stereotaxic surgery in first day after the end of the strength training. Between first to sixth days after strength training, the “exercised” animals kept ladder climbing sessions, without overload, to avoid the detraining process. In day one, animals received intracerebroventricular (i.c.v.) OUA injection. A battery of behavioral tests was performed in days 7 and 14 after OUA. Day 7 is expected to be related to manic behavior and day 14 to depressive-like behavior. Spatial learning and recognition memory were performed in days 9-12 and 16-17 after OUA, respectively. After all

behavior test, the animals were euthanized by decapitation and hippocampus was collected for further neurochemical assays.



Schematic illustration of the experimental timeline. The strength training protocol was carried out during the first eight weeks, followed by a progressive load test and a stereotaxic surgery. During the recovery period, the trained animals continued ladder climbing without overload until the day of ouabain injection (day 1). Seven and fourteen days after the OUA injection, the animals were subjected to a battery of behavioral tests. The Morris water maze test and the novel object recognition test were performed on days 9-12 and 16-17, respectively. Eighteen days after OUA injection, the animals were euthanized, and samples were collected for biochemical analysis.

4.2.3 Strength training protocol – Vertical Ladder

In the three beginning days of the training protocol, animals were submitted to a familiarization to the task in the 80° inclined vertical ladder apparatus (110 cm x 10 cm) with a housing black chamber (25 x 25 x 20 cm) located at the top of the ladder (HORNBERGER JR.; FARRAR, 2004). The familiarization consisted in three sequential climbing trials by day over three days without overload. Subsequently, animals were trained for the remaining days until completing eight weeks of training, five days a week. Each training section was composed by five sets of five climbs with one minute of rest in the black chamber between sets. In the first day of training with workload, it was with fixed in the proximal portion of the tail with adhesive tape and animals climbing with 25% of the body weight (BW) overload. If animals complete five sets without failure, an additional 5% BW load was added in the next day. In case of failure, same load was repeated in the next day. Overload was adjusted weekly with the increment of 15% of BW overload until reach 130% of BW overload in the last week.

4.2.3.1 Progressive workload test

To demonstrate the strength gain with our protocol, animals were submitted to a progressive overload test in the last training day. The test consisted of five sets of five climbs with a progressive overload with one minute of rest between sets in the black chamber. Overload progression was 0, 50, 75, 100 and 150% of BW. Total work was calculated and expressed in Joules (J).

4.2.4 Surgical procedure and ouabain administration

Animals were anesthetized with ketamine (75 mg/kg, i.p.), xylazine (10 mg/kg, i.p.) and acepromazine (2.5 mg/kg, i.p.) and placed in a rodent stereotaxic apparatus. The skin covering the skull was trichotomized and the surgical area was degenerated with chlorhexidine. An incision of 2 cm was made in the skin and a 0.8 mm diameter hole was drilled in the right parietal bone for the insertion of a 9 mm guide cannula on the skull, placed 1 mm above right lateral ventricle according to following coordinates from bregma (in mm): 0.9 AP; 1.5 LL; and 2.6 mm V (PAXINOS et al., 2006). Cannula was fixed with dental acrylic cement and the incision was sutured so that the upper extremity of the cannula was exposed. Immediately after surgical procedure animals received dextrose (1 g/kg) plus dipyrone (200 mg/kg) in 1 mL saline (NaCl 0.9%, i.p.). Cannula was fixed with dental acrylic cement and the incision was sutured so that the cannula was exposed. Four days after surgery recovery animals received a single i.c.v. injection of ouabain 10^{-3} M (5 μ L) diluted in artificial cerebrospinal fluid (aCSF) or 5 μ L of aCSF alone. A 10 mm needle was placed into the guide cannula and connected to a Hamilton® microsyringe through a polyethylene tube. The tip of the infusion cannula protruded 1.0 mm beyond the guide cannula to reach the right lateral ventricle. Each infusion lasted four minutes, aiming to avoid the efflux of the solution (EL-MALLAKH et al., 1995; RIEGEL et al., 2009).

4.2.5 Behavioral analysis

4.2.5.1 Open field

Rats were placed in a wood box (50 cm x 50 cm x 50 cm), the floor comprised sixteen equal squares. Each animal was gently placed on the center to explore the arena for five minutes in the 7th and 14th day after the OUA injection. The locomotor and exploratory activities were assessed as total distance traveled, numbers of crossings and number of visits to the central area of the arena.

4.2.5.2 Elevated plus maze

The elevated plus-maze consisted of two horizontal wooden surfaces aligned at the ends (open arms), crossed at right angles with two other surfaces of the same alignment (closed arms). All arms are the same size (50 x 10 cm), with the closed arms being surrounded by 40 cm high walls, except in the central part (10 x 10 cm), where the surfaces intersect. The entire apparatus is raised 50 cm from the floor. The test consisted of gently placing each animal in the central area of the apparatus, and free exploration was allowed for five minutes in the 7th and 14th day after the OUA injection. The number of entries and the time spent within each arm were measured. The number of head dips were also recorded. All the behavior was recorded in a camera for further offline analysis. (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019).

4.2.5.3 Splash test

The splash test consisted in spraying a 10% sucrose solution on the dorsal coat of the rat in the open field apparatus, and the time spent in grooming (including nose/face grooming, head washing, and body grooming) was recorded during 5 min (DUCOTTET; BELZUNG, 2004). The test was performed in the 7th and 14th day after the OUA injection.

4.2.5.4 Pick-up test

In the 7th and 14th days after the OUA injection, animal was picked up around the body and its response was scored as 1- very easy, 2- easy with vocalizations, 3- some difficulty, rat rears and faces the hand, 4- the rat freezes, with or without vocalizations, 5- difficult, rat avoids the hand and moving away, 6- very difficult, rat behaves defensively and may attack (RICE et al., 1998).

4.2.5.5 Neuroscore

The neuromotor function was analyzed by the neuroscore test, that consisted of three tests: 1 - Forelimb flexion test; 2 - Hindlimp flexion test; 3 - Visually triggered placing test; 4 - Hindpaw grasping reflex test; 5 – Grid test. Each animal was scored from 0 (severely impaired) to 4 (normal). The maximum score for each animal was 32 (HAUSSER et al., 2018). The test was performed in the 7th and 14th day after the OUA injection.

4.2.5.6 Morris water maze

To assess spatial learning, Morris water maze test was performed in a circular tank of 80 cm in diameter, divided in four quadrants, located in a room with extra maze cues. The platform (14 cm in diameter) was submerged 1.5 cm beneath the surface of the water, which was maintained at 23°–25 °C throughout testing. Milk was added to opaque the water and hide the platform. During the learning phase, each animal was given 4 trials per day for a total of 3 days. Each trial consisted of 60 seconds to locate the platform, and if the animal failed to reach the platform, they were guided to its location. Animals were allowed 10 seconds on the platform to encode extramaze cues between the trials. In the test day, the animals have 60 seconds to locate the platform, and the latency (seconds) was recorded. After that, the hidden platform was removed, and the time spent in the quadrant where the platform was located was recorded too (MORRIS, 1984). This protocol was performed between the 9-12 days.

4.2.5.7 Novel object recognition

The object recognition test was performed in the same arena of the open field. The objects to be discriminated were figures of similar size and texture (8–10 cm high) fixed to the floor with adhesive tape. In the experimental day 22, the animals were placed in the open field with two equal objects (A1 and A2) for free exploration and the time spent exploring each object was recorded for 10 minutes. The short-term memory was tested one hour after the first trial, the animals were replaced in the same arena

for 5 minutes with one of the objects changed by a new one (objects A and B). To assess the long-term memory, 24 hours after the first trial animals were replaced in the open field for 5 minutes with one different object (objects A and C). The cumulative time that each rat spent at each of the objects was manually recorded by an observer, who was not aware of treatments. The percentage of total time exploration that each animal spent investigating the novel object was the measure of recognition memory, defined as the Discrimination Index (DI) (LUEPTOW, 2017). It was calculated using the following formula: Discrimination Index = (time spent investigating new object/time spent investigating both objects)*100.

4.2.6 Biochemistry assays

4.2.6.1 Sample processing

At the end of the experimental protocol a set of animals were euthanized by decapitation and their hippocampus was collected by quickly opening the skull in the sagittal suture and parietal bone removal. The brain was gently watered with cold aCSF, at once removed from the skull, and placed in a Petri dish with ice underneath, cold aCSF, and filter paper inside to help tissue adherence and removal of the hippocampi. The hippocampi were collected and at once frozen in liquid nitrogen and maintained at -80 °C in a freezer until use.

4.2.6.2 Western Blotting

Western blot analysis was performed according to (FUNCK et al., 2014) with some modifications. Samples of hippocampus were lysed on ice in radio-immunoprecipitation assay (RIPA) buffer and centrifuged for 20 min at 12.700 rpm at 4 °C. The protein concentration of each sample was determined by the bicinchoninic acid (BCA) protein assay (Thermo Fisher Scientific). All samples were adjusted to 2 µg/µL of protein. Samples (60 µg protein) were subjected to an 8% or 14% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and transferred to a nitrocellulose membrane using Trans-Blot® Turbo™ Transfer System and equal protein loading was confirmed by Ponceau S solution (Sigma Aldrich - P7170). After specific blocking (BSA

4%), membranes were washed with TBS-T (TBS plus 0.1% Tween 20) twice at room temperature for 10 min and incubated with antibodies listed in supplementary data.

Table 1 – Primary antibodies used in Western Blotting assays

Antibody	Dilution	Specie	Molecular Weight	Datasheet	Manufacturer
mTOR	1:1000	Mouse	288 kDa	SC-517464	Santa Cruz Biotechnology
P ^{ser2448} -mTOR	1:1000	Rabbit	220~288 kDa	44-1125G	Sigma Aldrich
PI3K	1:1000	Mouse	85 kDa	MA174183	Thermo Fisher Scientific
P ^{tyr467} -PI3K	1:1000	Rabbit	85 kDa	PA5118549	Fisher Scientific
AKT	1:1000	Mouse	62 kDa	VMA00253	Bio-Rad Antibodies
P ^{ser473} -AKT	1:1000	Rabbit	62 kDa	44-621G	Thermo Fisher Scientific
CREB	1:1000	Rabbit	43 kDa	3H8L15	Therma Fisher Scientific
P ^{ser133} -CREB	1:1000	Rabbit	43 kDa	MA5-11192	Thermo Fisher Scientific
TrkB	1:1000	Rabbit	145 kDa	07-225	Merck Millipore
ERK	1:2000	Rabbit	44 kDa	617400	Thermo Fisher Scientific
P ^{tyr204} -ERK	1:1000	Mouse	44 kDa	SC-7383	Santa Cruz Biotechnology
BDNF	1:1000	Rabbit	14 kDa	19HCLC	Thermo Fisher Scientific
p70 S6K	1:1000	Mouse	70 kDa	SC-8418	Santa Cruz Biotechnology
P ^{ser434} -p70 S6K	1:1000	Mouse	70 kDa	SC-8416	Santa Cruz Biotechnology
GSK-3 β	1:1000	Rabbit	45-60 kDa	G7914	Sigma Aldrich

After primary antibody incubation, membranes were washed twice with TBS plus 0.1% Tween 20 at room temperature for 15 minutes and incubated with anti-rabbit (sc-2004, Santa Cruz Biotechnology) or anti-mouse (sc-2005, Santa Cruz Biotechnology) secondary antibodies conjugated with horseradish peroxidase (1:5000) for 2 hours at room temperature. Bands were visualized by enhanced chemiluminescence using ECL Western Blotting Substrate (Pierce ECL, BioRad) and the signals were captured with ChemiDoc XRS+ (BioRad). Then the bands were quantified by using Image Lab software (Bio-Rad) and normalized using the Ponceau S red total protein stain (ROMERO-CALVO et al., 2010). Values are expressed as a percentage of the control.

4.2.6.3 Immunohistochemistry assay

Following the behavioral tests, a set of rats (n=6 per group) were deeply anesthetized with ketamine (100 mg/kg; i.p.) and perfused through the heart with heparinized saline. The brain was post fixed in 4% paraformaldehyde for 36 h and thereafter, in 30% sucrose. After four days the tissue was frozen in ice cold isopentane and 16 μ m slices were obtained in a cryostat (CM2850, Lupetec). Slices were stored

in a cryoprotectant solution at -20 °C until further use. Sections were mounted onto gelatin-coated slides. Thereafter, the slides were immersed in a solution of NaOH 0.05% and 80% ethanol for 5 min, followed by 70 % ethanol for 2 min, distilled water for 2 min, and 0.06 % potassium permanganate for 10 min. After these steps, slides were transferred to the GFAP (0,5%; Sigma Aldrich) and DAPI (0.01%; sc-3598, Santa CruzBiotechnology) in 0.1 % acetic acid for 1 h and rinsed with distilled water. Then, finally immersed in xylene for 1 min, covered with DPX and a coverslip and dried at room temperature. Sections were photographed under a fluorescent microscope (A3 filter for GFAP and A4 filter for DAPI; DMI4000B, Leica). Slide evaluation was conducted under 10x or 20X magnification. using ImageJ software (MELLO et al., 2020).

4.2.7 Statistical analysis

The data were expressed as box and whisker plots showing all of the data points. To assay the normality, a Shapiro-Wilk test was performed, and the data analysis was conducted using two-way analysis of variance (ANOVA) test or Scheirer–Ray–Hare test, for parametric or non-parametric data, respectively. Post-hoc analyses were performed using the Tukey test; $p < 0.05$ was considered significant.

4.3 Results

4.3.1 Progressive overload test

At the end of strength training protocol, the progressive overload test was performed to assess the strength gain. Statistical analysis showed that trained rats presented higher total work compared with sedentary animals in 75% ($t=14,91$; $p<0,001$), 100% ($t=25,87$; $p<0,001$) and 150% ($t=21,51$; $p<0,001$) overloads.

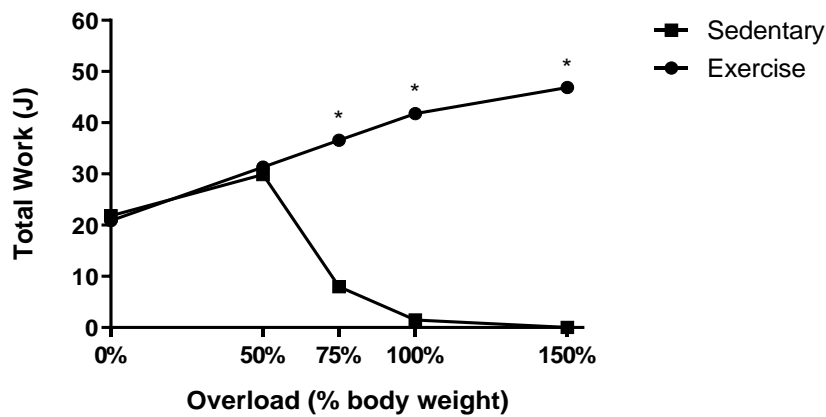


Fig 2 – Effect of a strength training on total work on a progressive workload test. Figure shows the total work produced in five different overloads. Data were analyzed by multiple t test and are represented as mean \pm SEM (n=8 per group). * indicates difference from sedentary + aCSF group.

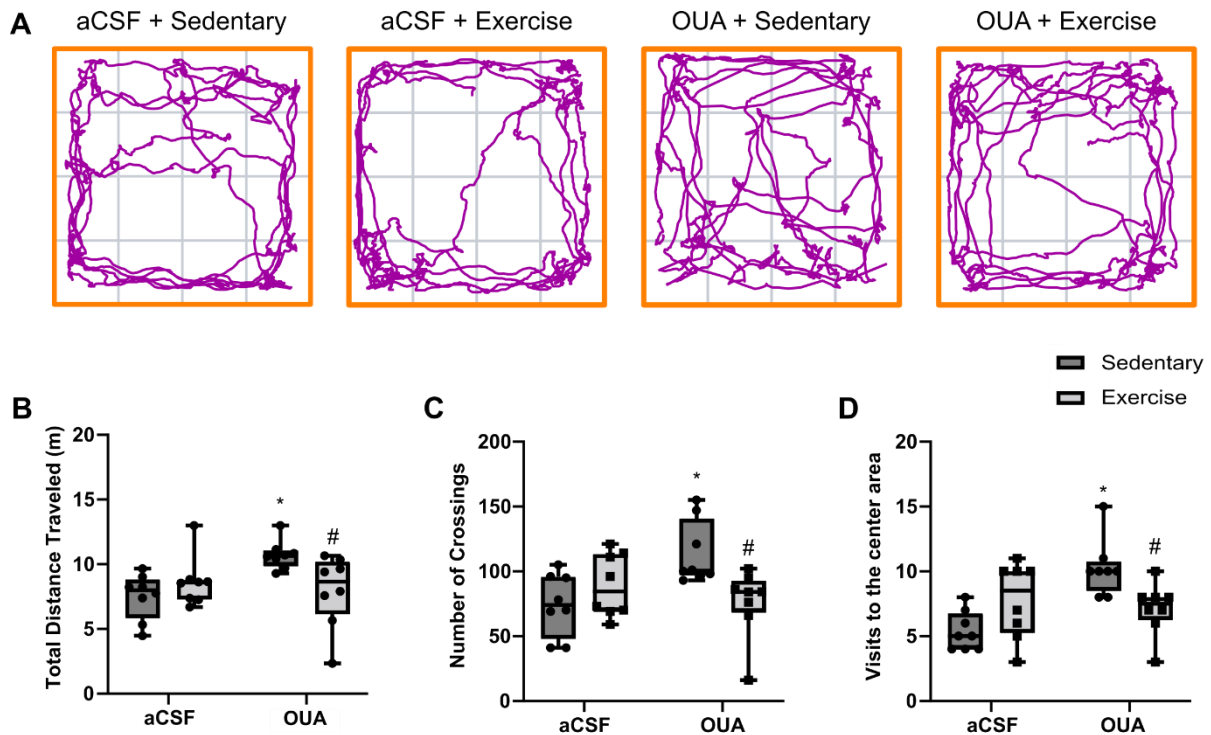
4.3.2 Behavioral analysis

4.3.2.1 Locomotor and exploratory activity

Statistical analysis revealed that previous strength training prevents OUA-induced increase in total distance traveled ($F(1,28)=7,485$; $P=0,0107$; Fig 3B), number of crossings ($F(1,28)=8,461$; $P=0,0070$; Fig 3C) and number of visits to the center area ($F(1,28)=13,52$; $P=0,0010$; Fig 3D) in seventh day after the OUA injection. In fourteenth day after OUA injection, the strength training prevented OUA-induced decrease in total distance traveled ($F(1,28)=4,199$; $P=0,0499$; Fig 3F) and number of visits to the central area of the apparatus ($F(1,28)=6,360$; $P=0,0176$; Fig 3H).

Open Field Test

7 Days



14 Days

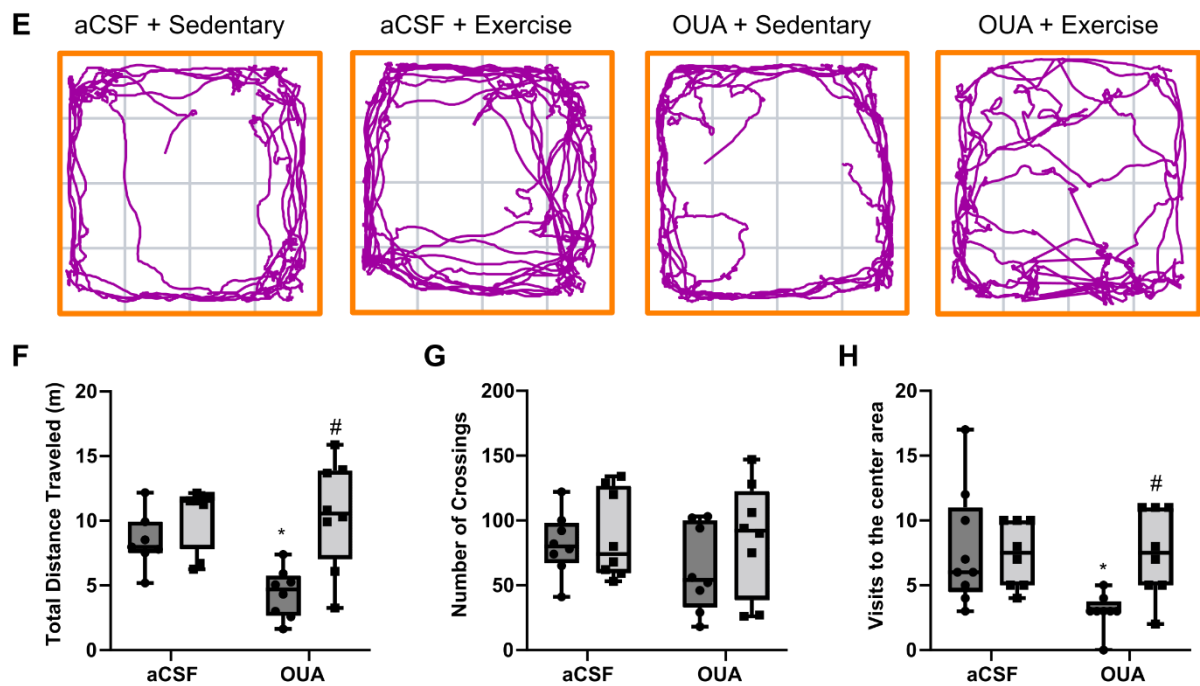


Fig 3 – Effect of a strength training on exploratory activity in open field test in rats submitted to a model of BD. Figure shows representation of track plots recorded during test sessions (5 minutes) (A, E), total distance traveled (B, F), number of crossing (C, G) and number of visits to the central area (D, H) in open field test in 7th (A, B, C, D) and 14th days (E, F, G, H). Data were analyzed by two-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test and are present in box and whisker plots, where the bottom border represents the 25th percentile, the line bisecting the shaded region of the box represents the

median, the upper border of the box represents the 75th percentile, the whiskers represent extreme values (n=8 per group). * indicates difference from sedentary + aCSF group. # indicates difference from sedentary + OUA group.

Previous strength training prevented OUA-induced decrease in closed arms entries in seventh day ($F(1,28)=14,63$; $P=0,0007$; Fig 4B), decrease in time spent in open arms in fourteenth day ($F(1,28)=5,850$; $P=0,0223$; Fig 4D) and increase in closed arms entries also in fourteenth day ($F(1,28)=6,488$; $P=0,0166$; Fig 4E). The strength training also increased the number of head dips in fourteenth day compared to control ($F(1,28)=10,81$; $P=0,0027$; Fig 4F).

4.3.2.2 Selfcare and aggressive-like behavior and neurofunction

Strength training prevented OUA-induced increase in latency to begin grooming behavior ($F(1,28)=8,231$; $P=0,0077$; Fig 4G) and decrease time spent in grooming in the seventh day ($F(1,28)=7,830$; $P=0,0092$; Fig 4H). Fourteen days after OUA injection, we found a main effect of OUA treatment for latency to start grooming ($F(1,28)=6,337$; $P=0,0178$; Fig 4K) and time spent in grooming ($F(1,28)=13,57$; $P=0,0010$; Fig 4L).

Physical exercise prevented OUA-induced increase in aggressive-like behavior in pick-up test in seventh day ($F(1,28)=1024$; $P<0,0001$; Fig 4I). No difference between groups was noticed in neuroscore in both moments ($F(1,28)=0,8353$; $P=0,3686$; Fig 4J; $F(1,28)=0,8353$; $P=0,3686$; Fig 4N; seventh and fourteenth days, respectively).

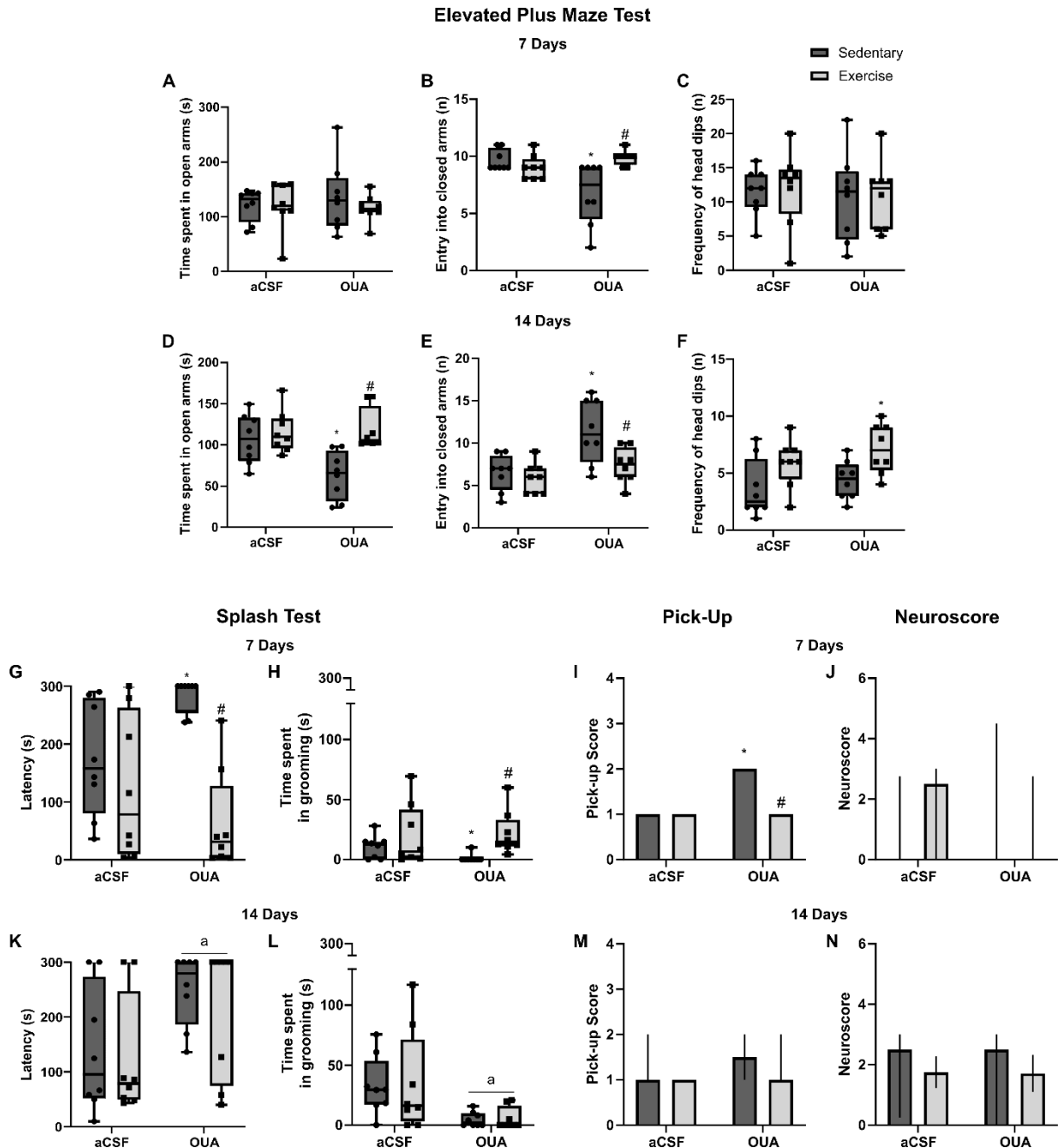


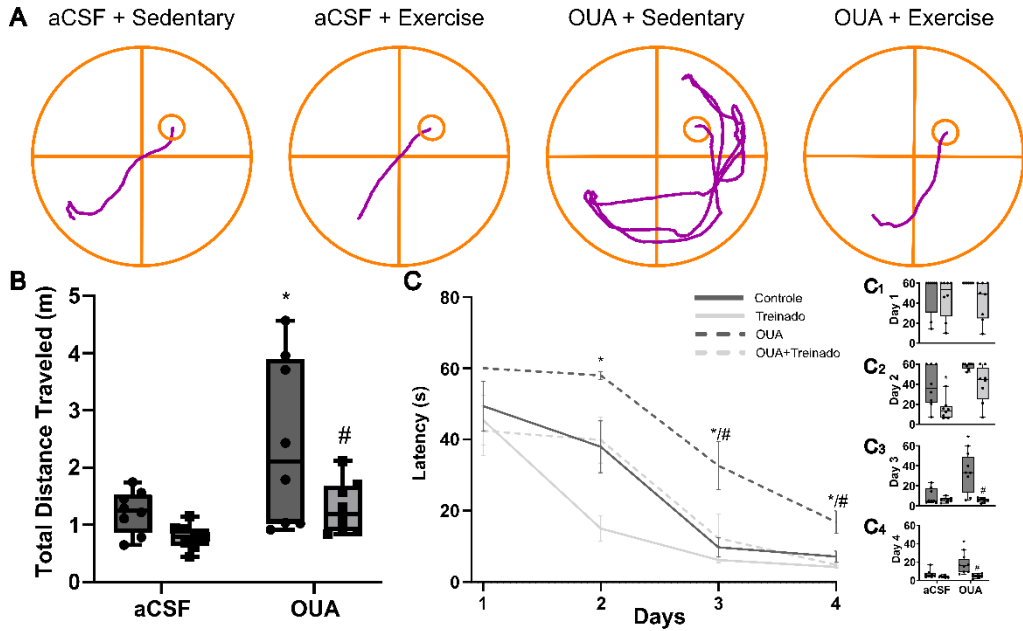
Fig 4 – Effect of a strength training on exploratory activity in elevated plus maze test, splash test, pick-up and neuroscore test in rats submitted to a model of BD. Figure shows the time spent in open arms (A, D), number of entry into closed arms (B, E) and frequency of head dips (C, F) in elevated plus maze test, latency time to begin the grooming behavior (G, K) and the time spent in grooming (H, L) in splash test, and the score in the pick-up (I, M) and the neuroscore (J, N) in two different moments: seven (A, B, C, G, H, I, J) and fourteen days (D, E, F, K, L, M, N) after the ouabain injection. Data were analyzed by two-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test (C, E, F) or by Scheirer–Ray–Hare test (A, B, D, G, H, I, J, K, L, M, N) and are present in box and whisker plots (A, B, C, D, E, F, G, H, K, L), where the bottom border represents the 25th percentile, the line bisecting the shaded region of the box represents the median, the upper border of the box represents the 75th percentile, the whiskers represent extreme values (n=8 per group) and mean \pm SEM (I, J, M, N) (n=8 per group). * indicates difference from sedentary + aCSF group. # indicates difference from sedentary + OUA group.

4.3.2.3 Memory analysis

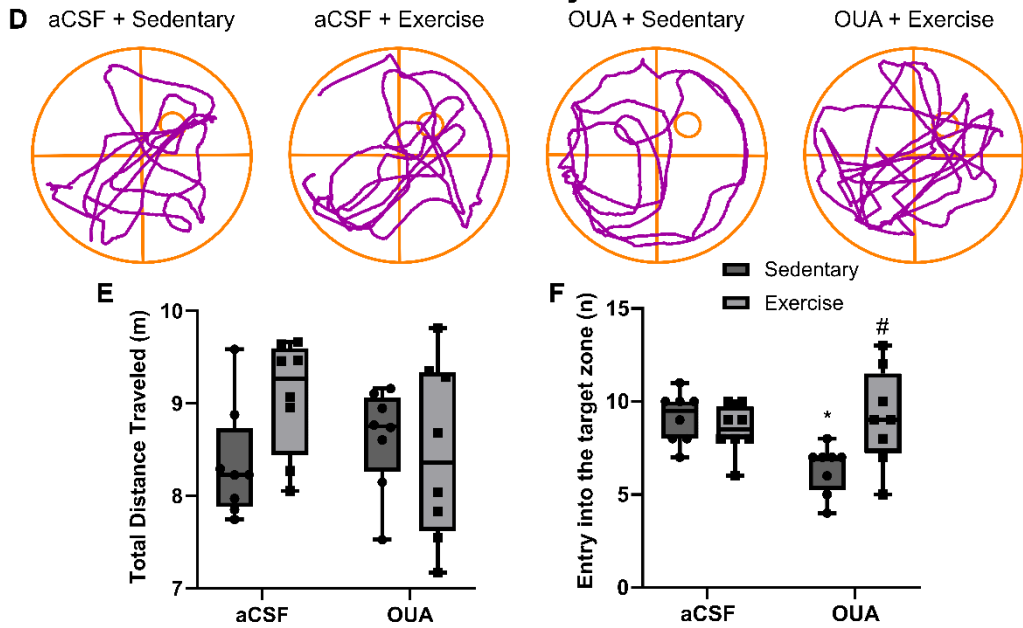
Physical exercise prevented OUA-induced increase in total distance traveled ($F(1,28)=7,593$; $P=0,0102$; Fig 5B) and latency time to find the platform in the third ($F(1,28)=6,694$; $P=0,0152$; Fig 5C₃) and fourth ($F(1,28)=6,694$; $P=0,0152$; Fig 5C₄) days in Morris water maze test. In the second day, the aCSF+exercise animals present lower latency to find the platform compared to control group ($F(1,28)=15,07$; $P=0,0006$; Fig 5C₂). In the permanency test, no significative difference was demonstrated in total distance traveled, but the previous strength training prevented OUA-induced decrease in entries into the platform zone ($F(1,28)=7,628$; $P=0,0100$; Fig 5F). The physical training protected against OUA-induced decrease in discrimination index both in short ($F(1,28)=22,28$; $P<0,0001$; Fig 5G) and long-term memory in novel object recognition test ($F(1,28)=8,428$; $P=0,0071$; Fig 5H).

Morris Water Maze

Latency Test



Permanency Test



Novel Object Recognition

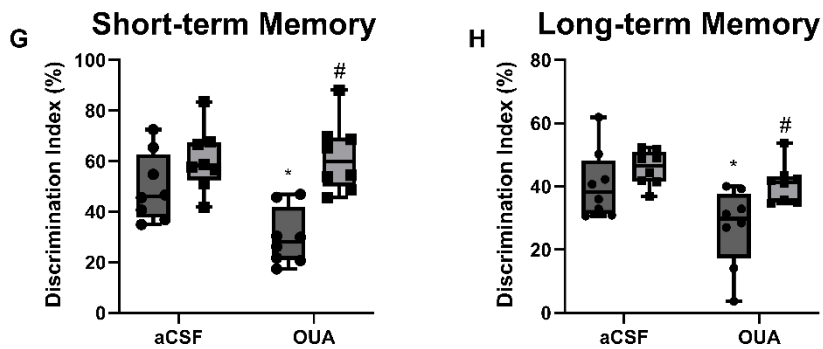


Fig 5 – Effect of previous strength training and a single i.c.v. injection of ouabain on Morris water maze and novel object recognition. Figure shows representation of track plots recorded during test sessions (A, D), total distance traveled (B, E), latency to find the hidden platform (C) in the four days of test, which is depicted in the figures C₁, C₂, C₃ e C₄, and the number of entries into the platform zone (F). The figure also shows the discrimination index (%) in short-term (G) and long-term memory (H) in novel object recognition test. Data were analyzed by two-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test (B, E, F, G, H) or by Scheirer–Ray–Hare test (C) and are present in box and whisker plots, where the bottom border represents the 25th percentile, the line bisecting the shaded region of the box represents the median, the upper border of the box represents the 75th percentile, the whiskers represent extreme values (n=8 per group). * indicates difference from sedentary + aCSF group. # indicates difference from sedentary + OUA group.

4.3.3 Molecular analysis

Statistical analysis showed that trained+aCSF animals present an increase in p-PI3K/total PI3K ratio compared to control ($F(1,20)=15,59$; $P=0,0008$; Fig 6A) and OUA-treated sedentary animals presented a decrease in the same ratio compared to control ($F(1,20)=38,88$; $P<0,0001$; Fig 6A). ANOVA demonstrated that trained animals presented an increase in p-AKT/total AKT ($F(1,20)=29,89$; $P<0,0001$; Fig 6B) and p-mTOR/total mTOR ratio ($F(1,20)=48,29$; $P<0,0001$; Fig 6C) compared to control group and post-hoc analysis showed that previous training prevented OUA-induced decrease in p-mTOR/total mTOR ratio ($F(1, 20)=20,85$; $P=0,0002$; Fig 6C). In p-P70S6K/total P70S6K ratio, previous strength training prevented OUA-induced decrease in phospho/total ratio ($F(1,20)=8,331$; $P=0,0091$; Fig 6D). The post-hoc showed that the previous training prevented OUA-induced increase in GSK-3 β immunoreactivity ($F(1,20)=4,385$; $P=0,0492$; Fig 7A) and also increased the BDNF immunoreactivity ($F(1,20)=17,60$; $P=0,0004$; Fig 7B), and prevented OUA-induced decrease in p-ERK/total ERK ($F(1,20)=5,784$; $P=0,0260$; Fig 7D) and p-CREB/total CREB ratio ($F(1,20)=12,27$; $P=0,0022$; Fig 7E).

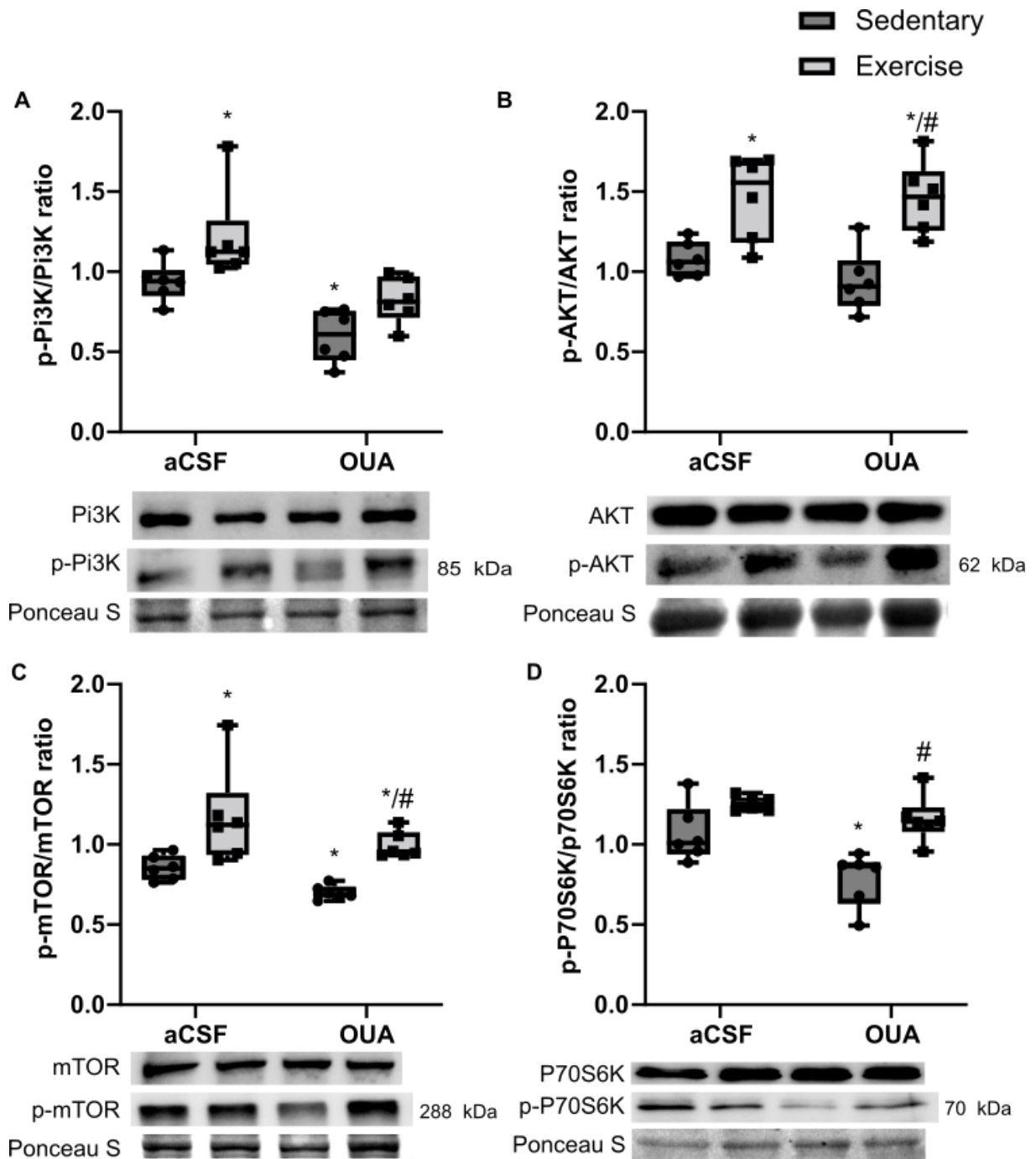


Figure 6 – Effect of previous strength training in myogenic-related pathway immunoreactivity in a model of BD. Figure shows p-Pi3K/total Pi3K (A), p-AKT/total AKT (B), p-mTOR/total mTOR (C) and p-P70S6K/total P70S6K (D). Data were analyzed by two-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test (B, D) or by Scheirer–Ray–Hare test (A, C) and are present in box and whisker plots, where the bottom border represents the 25th percentile, the line bisecting the shaded region of the box represents the median, the upper border of the box represents the 75th percentile, the whiskers represent extreme values (n=6 per group). * indicates difference from sedentary + aCSF group. # indicates difference from sedentary + OUA group.

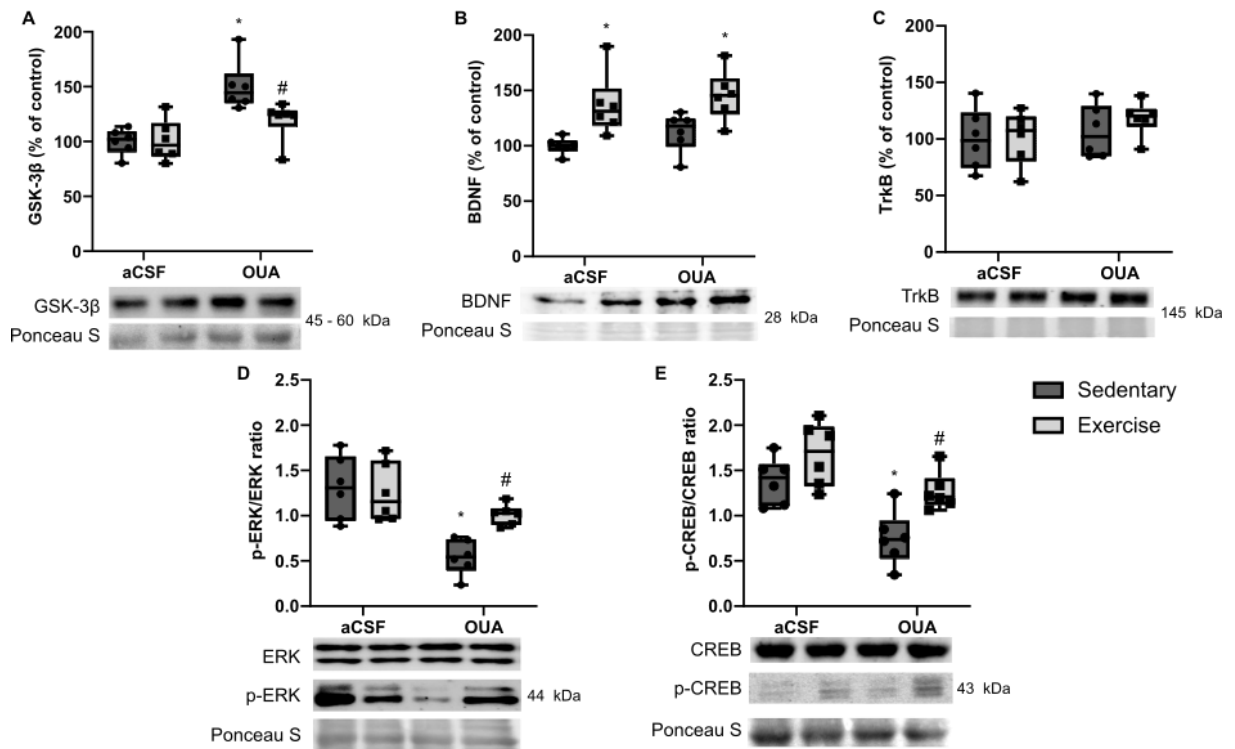
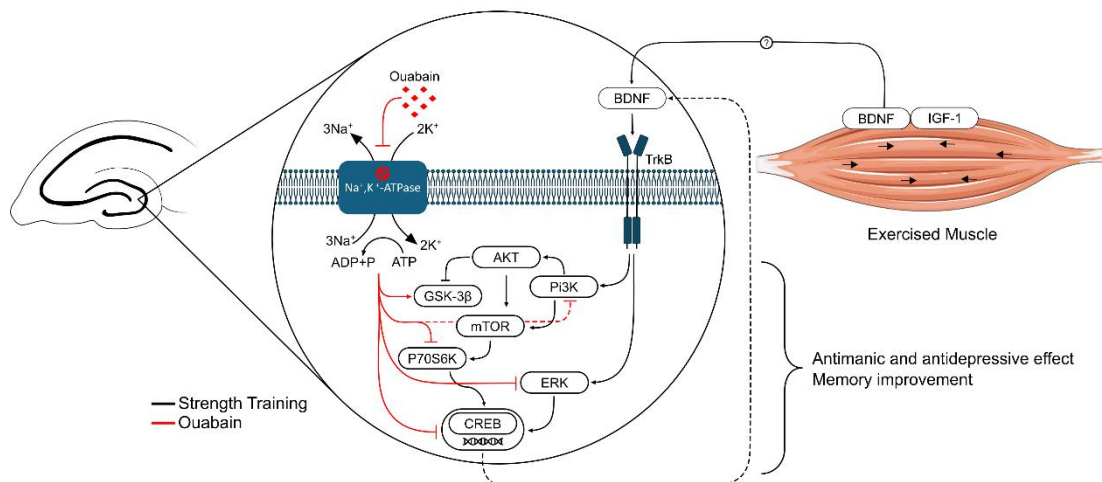


Figure 7 – Effect of previous strength training in GSK-3β and neurogenesis-related pathway immunoreactivity in a model of BD. Figure shows immunoreactivity of GSK-3β (A), BDNF (B) and TrkB (C) and the ratio p-ERK/total ERK (D) and p-CREB/total CREB (E). Data were analyzed by two-way ANOVA followed by Tukey's post-hoc test (B, C, D, E) or by Scheirer–Ray–Hare test (A) and are present in box and whisker plots, where the bottom border represents the 25th percentile, the line bisecting the shaded region of the box represents the median, the upper border of the box represents the 75th percentile, the whiskers represent extreme values (n=6 per group). * indicates difference from sedentary + aCSF group. # indicates difference from sedentary + OUA group.



Graphic abstract. The figure illustrates the effect of strength training on biochemical pathways in the hippocampus of ouabain-treated rats. The black lines show the effects of exercise training, while the red lines show the effects of ouabain injection. After eight weeks of strength training, there was an increase in BDNF immunoreactivity in the hippocampus, including the activation of its downstream effects. Following the interaction between BDNF and its receptor, TrkB, there was activation of Pi3K/AKT/mTOR/p70S6K and ERK/CREB.

4.4 Discussion

In the present study, we demonstrated, for the first time, that an eight-week strength training program involving a climbing ladder attenuated behavioral, cognitive and neurochemical deficits in a model of OUA-induced bipolar disorder. Furthermore, our findings indicated that prior strength training had a preventive effect on both manic and depressive-like behavior induced by a single OUA injection. This was evidenced by increased locomotor and exploratory activity, risk-taking behaviors and aggressive-like behavior during the manic period, and decreased locomotor activity and anxiety-like behavior during the depression period. It is noteworthy that these behavioral changes were not influenced by neuromotor deficits, as evidenced by the neuroscore evaluation. Furthermore, physical exercise protected against OUA-induced memory impairment, which may be related to the activation of the BDNF/TrkB/ERK/CREB pathway by strength training, as well as increased Pi3K/AKT/mTOR/P70S6K pathway activation in the hippocampus. This mechanism may be responsible for preventing the increase in GSK-3 β induced by OUA.

The objective of the progressive workload test performed in our study was to demonstrate the efficacy of our strength training protocol and to substantiate the predicted adaptations associated with strength training, considering its distinctive characteristics. We found that trained animals exhibited a superior capacity to produce work in comparison to the sedentary animals, indicating an enhancement in muscle strength production induced by our strength training protocol. This training protocol was based on the methodology proposed by (HORNBERGER JR.; FARRAR, 2004), whose study demonstrated that the strength training protocol was effective in increasing the total protein and myofibrillar protein content and cross-sectional area of the flexor hallucis longus muscle.

Aerobic physical exercise is a well-established, non-pharmacological intervention with proven efficacy in the management of numerous neurological and psychiatric conditions (MOYLAN et al., 2013). However, the therapeutic potential of strength training in the context of neurological and psychiatric disorders remains relatively understudied. In this regard, previous research has demonstrated the efficacy of strength training in neuroprotection against Alzheimer's (JENSEN et al., 2019) and Parkinson's diseases (TUON et al., 2014), as well as in the management of

anxiety and depression (WEGNER et al., 2014). The therapeutic effect of physical exercise in BD remains unclear. However, a pilot study demonstrated that a 40-minute walk, five days a week, for long periods attenuates depressive and anxiety symptoms in BD patients (NG; DODD; BERK, 2007). Nevertheless, to the best of our knowledge, no studies have yet demonstrated the effect of strength training on BD symptoms.

In BD, both humor states, mania and depression, are defined by the presence of opposite symptoms. Manic episodes are characterized by elevated mood, risk-taking behavior, and irritability (MITCHELL; LOO; GOULD, 2010). In contrast, depression is typified by a pervasive sense of sadness and anhedonia (SERRA et al., 2019). Preclinical trials have demonstrated the emergence of manic-like behaviors seven days following OUA injection, including increased locomotor activity and risk-taking behavior (EL-MALLAKH et al., 1995). Additionally, depressive-like behaviors have been observed fourteen days following OUA administration, including increased immobility time, decreased preference for sweet food, and self-care behavior (VALVASSORI et al., 2019, 2021). The present study demonstrated that previous strength training prevented the OUA-induced increase in locomotor activity and risk-taking behavior (seven days after administration) and decreased this behavior fourteen days after the injection. Furthermore, our findings indicate that strength training exerts a protective effect against the OUA-induced reduction in self-care behavior seven days following the administration of OUA.

It is a common occurrence for patients diagnosed with BD to present with anxiety disorders as a comorbid condition (MCINTYRE et al., 2006). A study by Pavlova et al. (2015) demonstrated that approximately 50% of individuals with BD experience at least one anxiety disorder, with symptoms primarily associated with the depressive phase of BD (PAVLOVA et al., 2015). Comorbid anxiety disorders in BD patients may lead to complications in BD progression, including impaired recovery from mood episodes, increased recurrence of mood episodes, suicidal ideation, and suicide attempts (PAVLOVA et al., 2017). In this context, the efficacy of strength (or resistance) training in the treatment of anxiety disorders has been substantiated by numerous studies. For instance, a meta-analysis revealed that strength training is an effective intervention for alleviating anxiety symptoms in both healthy individuals and those with neurological and psychiatric conditions, irrespective of sex (GORDON et al., 2017). The present study demonstrated that strength training exerts a protective effect against

OUA-induced augmentation of anxiety-like behavior, as evaluated through the elevated plus maze test. A comparable outcome was observed in a previous investigation employing an emotional single prolonged stress model and the elevated plus maze apparatus, wherein strength training was shown to diminish anxiety-like behavior (JUNG et al., 2023).

A substantial body of evidences has indicated a potential correlation between BD and aggressive behavior, particularly in the context of mania and psychotic episodes (BALLESTER et al., 2014). For instance, a meta-analysis demonstrated that individuals diagnosed with BD exhibited a higher prevalence of violent behavior compared to healthy controls, with an elevated risk observed in those with a comorbid substance abuse disorder (FAZEL et al., 2010). In this study, we demonstrate, for the first time, that rats in the manic phase (seven days after OUA administration) exhibit increased aggressive behavior when tested with a pick-up challenge. Our findings align with those of a study that analyzed a social interaction test in rats with attention deficit/hyperactivity disorder, which reported that aerobic training significantly decreased aggressive behavior (BAEK; LEE; BAEK, 2014). Our results support these hypotheses and extend it to other exercise modalities.

In addition to mood changes, BD patients also present with cognitive impairment, including memory deficits. Verbal memory and executive function are the main parameters affected (KERAMATIAN; TORRES; YATHAM, 2021). The majority of cognitive deficits manifest subsequent to the initial manic episode, with the severity of impairment correlating with the number of manic episodes experienced by the patient over their lifetime (BORA, 2018, p. 201). Constant strength training plays a significant role in neuroprotection against many neurological conditions due to its synergistic effects on the entire body (HAMER; CHIDA, 2009). Moreover, evidence indicates that strength training has been effective in alleviating cognitive impairments in patients diagnosed with Alzheimer's disease (PORTUGAL et al., 2015). In this regard, the results of our study demonstrated that an eight-week strength training protocol fully protected against OUA-induced memory deficits, as evaluated using the Morris water maze and novel object recognition tests. Similar training protocols have been shown to improve memory performance in Barnes maze in aged rats (VILELA et al., 2017) and in Morris water maze in healthy rats (CASSILHAS et al., 2012). Our findings are consistent with those of Valvassori et al (2021)(VALVASSORI et al., 2021), who

demonstrated that OUA injection induced memory deficits in short- and long-term memory in both the novel object recognition and inhibitory avoidance tests.

The present study revealed that strength training exerts a protective effect on memory, which may be linked to the activation of a neurogenesis-related pathway, namely BDNF/ERK/CREB (PINHO; AGUIAR; RADÁK, 2019). The results of our study demonstrated that animals who underwent training exhibited elevated levels of BDNF immunocontent in comparison to those who remained sedentary. Furthermore, the trained animals demonstrated a capacity to prevent the OUA-induced decline in ERK and CREB phosphorylation. These findings indicate that strength training may play a role in neurogenesis and neuroprotection against cognitive impairment associated with BD. In a previous study employing the OUA-induced BD model, a reduction in BDNF immunocontent was observed seven days following OUA administration, though not at day eighteen (VALVASSORI et al., 2021). In addition, no alterations in BDNF immunocontent were observed at the 18-day mark following OUA injection. However, BDNF downstream expression was found to be diminished, indicating that OUA-induced memory impairment and BDNF downstream downregulation may be persistent and independent of the decline in BDNF content observed on eighteenth day.

The molecular adaptations in skeletal muscle induced by strength training, such as those related to myogenesis (PI3K/AKT/mTOR/P70S6K pathway) have been well-described in previous research (YIN et al., 2020). However, the mechanisms underlying these adaptations in CNS cells remain poorly understood (PINHO; AGUIAR; RADÁK, 2019). In the present study we demonstrated, for the first time, that beyond the neurogenesis-related pathway, a vertical ladder strength training protocol activated the classical myogenic-related pathway in rats hippocampus, namely Pi3k/AKT/mTOR/P70S6K. This activation has previously been demonstrated for a similar protocol in the skeletal muscle of rats (YIN et al., 2020), but has never been shown in the brain until now. Furthermore, our findings indicate that OUA administration results in the downregulation of mTOR signaling, which is counteracted by strength training. It is also well established that OUA increases GSK-3 β in the brain (VALVASSORI et al., 2017). This can be linked to OUA-induced alterations in locomotor activity and risk-taking behavior, since the inhibition of GSK-3 β by AR-A014418 has been demonstrated to decrease this manic-related behavior parameter

in the OUA-induced BD model (DAL-PONT et al., 2019). Additionally, our findings indicate that prior strength training has the capacity to impede the OUA-induced elevation in GSK-3 β immunocontent. It seems reasonable to suggest that the training-induced activation of mTOR downstream has facilitated signaling those results in the reduction of GSK-3 β . This is supported by the established knowledge that PI3K/AKT inhibits GSK-3 β (HERMIDA; DINESH KUMAR; LESLIE, 2017).

In conclusion, the present study demonstrated that physical training mitigates the behavioral and cognitive impairments observed following a single injection of OUA in rats. It is noteworthy that strength training appears to exert an antimanic effect by reducing risk-taking behavior and preventing anxiety-like behavior in a depressive state. Furthermore, our strength training protocol demonstrated efficacy in safeguarding against BD-induced neurochemical impairment. Additionally, we have provided evidence suggestive of a potential involvement of BDNF downstream through ERK/CREB and PI3K/AKT/mTOR/P70S6K in the protective effect of strength exercise. Our findings offer compelling support for the potential neuroprotective effect of strength training in BD individuals.

4.3.3 Limitations of the study

In this study, samples were not collected immediately before the completion of the training protocol; instead, they were collected 18 days after its conclusion. This delay may potentially reduce the activation of the target pathway. Additionally, samples were not collected seven days after the ouabain injection, during the manic phase of the model. Furthermore, female rats were not evaluated, which limits translational comparisons, given that bipolar disorder affects men and women equally.

4.3.3 Fundings

This study was supported in part by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES). CNPq; grant no. 11/2082-4; L.F.F. Royes (grant no. 307382/2017-6) and E.G. Paiva are the recipients of CNPq fellowships. L.M. Maidana, J.M.S. Guerra, A.S. Pereira and M.P. Lins are the recipients of CAPES fellowships.

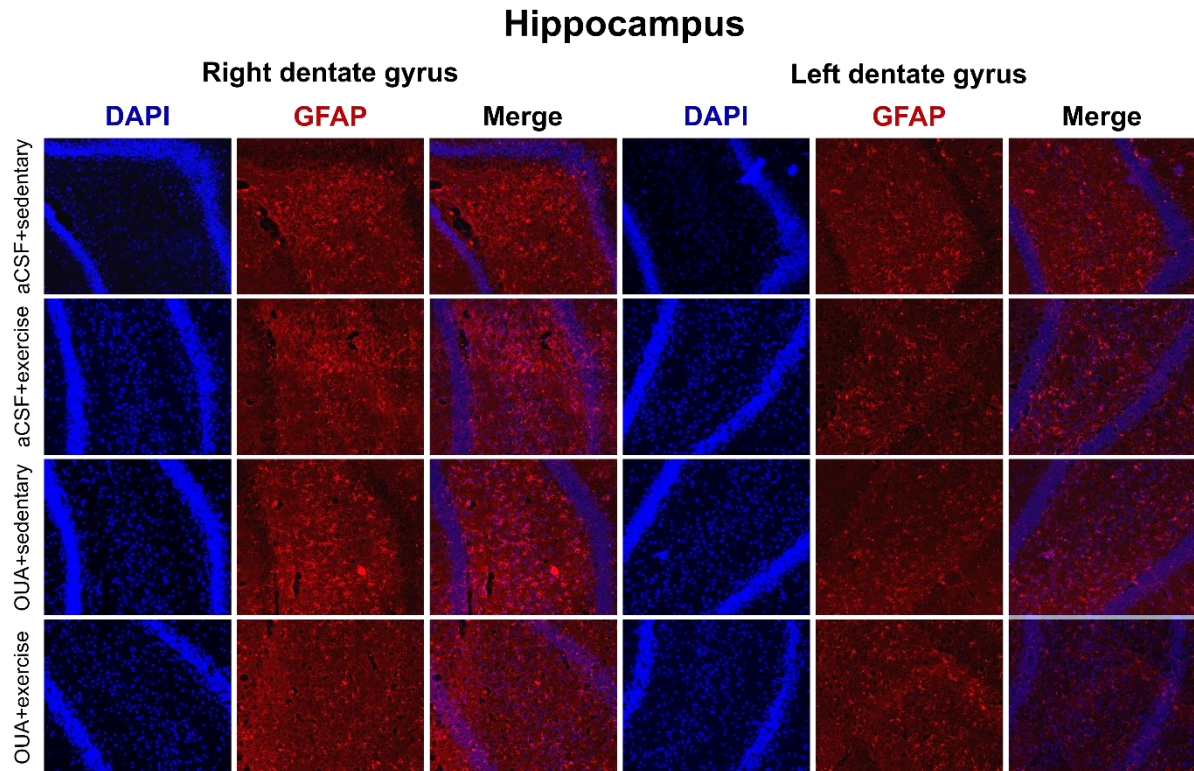
PARTE III

5. CONCLUSÕES

- O treinamento físico de força protegeu contra comportamentos semelhantes à mania, como hiperlocomoção, tomadas de risco e agressividade, e ansiosos em um modelo de TB.
- Um protocolo de treinamento de força de oito semanas protege contra déficits de memória espacial e de reconhecimento induzidos por uma injeção de ouabaína.
- O treinamento de força aumenta a expressão de BDNF, e protege contra a redução na ativação das enzimas ERK e CREB induzidas por ouabaína, bem como aumenta a ativação de AKT e mTOR e protege contra a redução na ativação de P70S6K induzida por ouabaína.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

- Finalizar a quantificação das análises de imuno-histoquímica no hipocampo conforme figura demonstrativa abaixo;



- Realizar uma análise histológica de músculo esquelético, a fim de demonstrar a hipertrofia muscular através do aumento no corte transversal das fibras musculares;
- Avaliar o estado redox a partir de análises da atividade de enzimas com função antioxidante e quantificação de marcadores relacionados ao estresse oxidativo.

A partir dos resultados já demonstrados no manuscrito somados aos achados das análises supracitadas, dois artigos experimentais serão submetidos a revistas internacionais na área da pesquisa. Além disso, seguindo a linha da pesquisa realizada, um artigo de revisão também será produzido para publicação em revistas de alto impacto.

7. REFERÊNCIAS

- AAS, M. et al. Reduced brain-derived neurotrophic factor is associated with childhood trauma experiences and number of depressive episodes in severe mental disorders. **Schizophrenia Research**, v. 205, p. 45–50, mar. 2019.
- ABÉ, C. et al. Manic episodes are related to changes in frontal cortex: a longitudinal neuroimaging study of bipolar disorder 1. **Brain**, v. 138, n. 11, p. 3440–3448, nov. 2015.
- AKULA, N. et al. RNA-sequencing of the brain transcriptome implicates dysregulation of neuroplasticity, circadian rhythms and GTPase binding in bipolar disorder. **Molecular Psychiatry**, v. 19, n. 11, p. 1179–1185, nov. 2014.
- ALMEIDA, K. M. DE et al. A Sib-Pair analysis of impulsivity in bipolar disorder type I. **Comprehensive Psychiatry**, v. 54, n. 8, p. 1148–1152, nov. 2013.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition (DSM-5)**. [s.l.: s.n.].
- ANDREAZZA, A. C. et al. Oxidative stress markers in bipolar disorder: A meta-analysis. **Journal of Affective Disorders**, v. 111, n. 2–3, p. 135–144, dez. 2008.
- ARENT, C. O. et al. Neuroanatomical Profile of Antimanic Effects of Histone Deacetylases Inhibitors. **Molecular Neurobiology**, v. 43, n. 3, p. 207–214, jun. 2011.
- BAEK, D.-J.; LEE, C.-B.; BAEK, S.-S. Effect of treadmill exercise on social interaction and tyrosine hydroxylase expression in the attention-deficit/ hyperactivity disorder rats. **Journal of Exercise Rehabilitation**, v. 10, n. 5, p. 252–257, 31 out. 2014.
- BALDASSANO, C. F. et al. Gender differences in bipolar disorder: retrospective data from the first 500 STEP-BD participants. **Bipolar Disorders**, v. 7, n. 5, p. 465–470, out. 2005.
- BALDESSARINI, R. J. et al. Effects of treatment latency on response to maintenance treatment in manic-depressive disorders. **Bipolar Disorders**, v. 9, n. 4, p. 386–393, jun. 2007.
- BALLESTER, J. et al. Prospective longitudinal course of aggression among adults with bipolar disorder. **Bipolar Disorders**, v. 16, n. 3, p. 262–269, maio 2014.
- BERK, M. et al. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: Focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 35, n. 3, p. 804–817, jan. 2011.
- BLISS, T. V. P.; COLLINGRIDGE, G. L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. **Nature**, v. 361, n. 6407, p. 31–39, jan. 1993.
- BOBO, W. V. The Diagnosis and Management of Bipolar I and II Disorders: Clinical Practice Update. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 92, n. 10, p. 1532–1551, out. 2017.
- BORA, E. Neurocognitive features in clinical subgroups of bipolar disorder: A meta-analysis. **Journal of Affective Disorders**, v. 229, p. 125–134, mar. 2018.

BORA, E.; PANTELIS, C. Meta-analysis of Cognitive Impairment in First-Episode Bipolar Disorder: Comparison With First-Episode Schizophrenia and Healthy Controls. **Schizophrenia Bulletin**, v. 41, n. 5, p. 1095–1104, set. 2015.

BORA, E.; YUCCEL, M.; PANTELIS, C. Cognitive endophenotypes of bipolar disorder: A meta-analysis of neuropsychological deficits in euthymic patients and their first-degree relatives. **Journal of Affective Disorders**, v. 113, n. 1–2, p. 1–20, fev. 2009.

BOSAIPO, N. B.; BORGES, V. F.; JURUENA, M. F. Bipolar disorder: a review of conceptual and clinical aspects. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 50, n. supl.1, p. 72–84, 4 fev. 2017.

BROWN, N. C.; ANDREAZZA, A. C.; YOUNG, L. T. An updated meta-analysis of oxidative stress markers in bipolar disorder. **Psychiatry Research**, v. 218, n. 1–2, p. 61–68, ago. 2014.

CADE, J. F. J. Lithium salts in the treatment of psychotic excitement. **Australian and New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 33, n. 5, p. 349–352, jan. 1999.

CALLAGHAN, C. K.; KELLY, Á. M. Differential BDNF signaling in dentate gyrus and perirhinal cortex during consolidation of recognition memory in the rat. **Hippocampus**, v. 22, n. 11, p. 2127–2135, 10 nov. 2012.

CASSILHAS, R. C. et al. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. **Neuroscience**, v. 202, p. 309–317, 27 jan. 2012.

CHEN, Y. et al. PI3K-AKT/mTOR Signaling in Psychiatric Disorders: A Valuable Target to Stimulate or Suppress? **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 27, n. 2, p. pyae010, 1 fev. 2024.

CHIOU, Y.-J.; HUANG, T.-L. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and bipolar disorder. **Psychiatry Research**, v. 274, p. 395–399, abr. 2019.

CIPRIANI, A. et al. Lithium in the prevention of suicide in mood disorders: updated systematic review and meta-analysis. **BMJ**, v. 346, n. jun27 4, p. f3646–f3646, 27 jun. 2013a.

CIPRIANI, A. et al. Valproic acid, valproate and divalproex in the maintenance treatment of bipolar disorder. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 17 out. 2013b.

CLAPCOTE, S. J. et al. Mutation I810N in the $\alpha 3$ isoform of Na⁺,K⁺-ATPase causes impairments in the sodium pump and hyperexcitability in the CNS. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 33, p. 14085–14090, 18 ago. 2009.

CLAY, H. B.; DAWS, S.; KONRADI, C. Mitochondrial dysfunction and pathology in bipolar disorder and schizophrenia. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 29, n. 3, p. 311–324, maio 2011.

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

CRADDOCK, N.; SKLAR, P. Genetics of bipolar disorder. **Lancet (London, England)**, v. 381, n. 9878, p. 1654–1662, 11 maio 2013.

- CRUCEANU, C. et al. Transcriptome sequencing of the anterior cingulate in bipolar disorder: dysregulation of G protein-coupled receptors. **The American Journal of Psychiatry**, v. 172, n. 11, p. 1131–1140, 1 nov. 2015.
- DAL-PONT, G. C. et al. Inhibition of GSK-3 β on Behavioral Changes and Oxidative Stress in an Animal Model of Mania. **Molecular neurobiology**, v. 56, n. 4, p. 2379–2393, 1 abr. 2019.
- DE DIOS, C. et al. Time spent with symptoms in a cohort of bipolar disorder outpatients in Spain: A prospective, 18-month follow-up study. **Journal of Affective Disorders**, v. 125, n. 1–3, p. 74–81, set. 2010.
- DEL-PORTO, J. A.; DEL-PORTO, K. O. História da caracterização nosológica do transtorno bipolar. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 32, p. 7–14, 2005.
- DUCOTTET, C.; BELZUNG, C. Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice. **Physiology and Behavior**, v. 81, n. 3, p. 417–426, 2004.
- EGERMAN, M. A.; GLASS, D. J. Signaling pathways controlling skeletal muscle mass. **Critical reviews in biochemistry and molecular biology**, v. 49, n. 1, p. 59–68, jan. 2014.
- EL-MALLAKH, R. S. et al. An animal model for mania: Preliminary results. **Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 19, n. 5, p. 955–962, 1995.
- FAGARD, R. H.; CORNELISSEN, V. A. Effect of exercise on blood pressure control in hypertensive patients. **European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, v. 14, n. 1, p. 12–17, fev. 2007.
- FAZEL, S. et al. Bipolar Disorder and Violent Crime: New Evidence From Population-Based Longitudinal Studies and Systematic Review. **Archives of General Psychiatry**, v. 67, n. 9, p. 931, 1 set. 2010.
- FERREIRA, M. A. R. et al. Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. **Nature Genetics**, v. 40, n. 9, p. 1056–1058, set. 2008.
- FIEDOROWICZ, J. G. et al. Depressive symptoms carry an increased risk for suicidal ideation and behavior in bipolar disorder without any additional contribution of mixed symptoms. **Journal of Affective Disorders**, v. 246, p. 775–782, mar. 2019.
- FIGUROV, A. et al. Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. **Nature**, v. 381, n. 6584, p. 706–709, jun. 1996.
- FOUNTOULAKIS, K. N. et al. The International College of Neuro-Psychopharmacology (CINP) treatment guidelines for Bipolar disorder in adults (CINP-BD-2017), part 3: The clinical guidelines. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, p. pyw109, 10 dez. 2016.
- FOUNTOULAKIS, K. N.; TOHEN, M.; ZARATE, C. A. Lithium treatment of Bipolar disorder in adults: A systematic review of randomized trials and meta-analyses. **European Neuropsychopharmacology**, v. 54, p. 100–115, jan. 2022.

- FRELAND, L.; BEAULIEU, J.-M. Inhibition of GSK3 by lithium, from single molecules to signaling networks. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 5, 2012.
- FREY, B. N. et al. Biomarkers in bipolar disorder: A positional paper from the International Society for Bipolar Disorders Biomarkers Task Force. **Australian & New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 47, n. 4, p. 321–332, abr. 2013.
- FRIES, G. R. et al. Memory and brain-derived neurotrophic factor after subchronic or chronic amphetamine treatment in an animal model of mania. **Journal of Psychiatric Research**, v. 68, p. 329–336, set. 2015.
- FUNCK, V. R. et al. Long-term decrease in Na⁺,K⁺-ATPase activity after pilocarpine-induced status epilepticus is associated with nitration of its alpha subunit. **Epilepsy Research**, v. 108, n. 10, p. 1705–1710, 1 dez. 2014.
- GBD 2019 MENTAL DISORDERS COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet. Psychiatry**, v. 9, n. 2, p. 137–150, fev. 2022.
- GESSA, G. L. et al. Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. **European Neuropsychopharmacology**, v. 5, n. SUPPL. 1, p. 89–93, 1995.
- GITLIN, M. Lithium side effects and toxicity: prevalence and management strategies. **International Journal of Bipolar Disorders**, v. 4, n. 1, p. 27, 17 dez. 2016.
- GOES, F. S. Diagnosis and management of bipolar disorders. **BMJ**, p. e073591, 12 abr. 2023.
- GOODWIN, F.; JAMISON, K. Manic-depressive illness: bipolar disorders and recurrent depression. 2007.
- GORDON, B. R. et al. The Effects of Resistance Exercise Training on Anxiety: A Meta-Analysis and Meta-Regression Analysis of Randomized Controlled Trials. **Sports Medicine**, v. 47, n. 12, p. 2521–2532, dez. 2017.
- GOULD, T. J.; KEITH, R. A.; BHAT, R. V. Differential sensitivity to lithium's reversal of amphetamine-induced open-field activity in two inbred strains of mice. **Behavioural Brain Research**, v. 118, n. 1, p. 95–105, jan. 2001.
- GRANDJEAN, E. M.; AUBRY, J.-M. Lithium: Updated Human Knowledge Using an Evidence-Based Approach. **CNS Drugs**, v. 23, n. 5, p. 397–418, maio 2009.
- HAJEK, T. et al. Hippocampal volumes in bipolar disorders: opposing effects of illness burden and lithium treatment. **Bipolar Disorders**, v. 14, n. 3, p. 261–270, 2 maio 2012.
- HAMER, M.; CHIDA, Y. Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. **Psychological Medicine**, v. 39, n. 1, p. 3–11, jan. 2009.
- HAUSSER, N. et al. Detecting Behavioral Deficits in Rats After Traumatic Brain Injury. **Journal of Visualized Experiments**, n. 131, p. 56044, 30 jan. 2018.

HAWTON, K. et al. Suicide and Attempted Suicide in Bipolar Disorder. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 66, n. 06, p. 693–704, 15 jun. 2005.

HEBB, D. O. **The organisation of behaviour**. New York: NY, John Wiley and Sons, 1949.

HERMIDA, M. A.; DINESH KUMAR, J.; LESLIE, N. R. GSK3 and its interactions with the PI3K/AKT/mTOR signalling network. **Advances in Biological Regulation**, v. 65, p. 5–15, ago. 2017.

HIBAR, D. P. et al. Subcortical volumetric abnormalities in bipolar disorder. **Molecular Psychiatry**, v. 21, n. 12, p. 1710–1716, 9 dez. 2016.

HIRSCHFELD, R. M. A.; LEWIS, L.; VORNIK, L. A. Perceptions and impact of bipolar disorder: how far have we really come? Results of the national depressive and manic-depressive association 2000 survey of individuals with bipolar disorder. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 64, n. 2, p. 161–74, fev. 2003.

HORNBERGER JR., T. A.; FARRAR, R. P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 29, n. 1, p. 16–31, 1 fev. 2004.

HUANG, T.-L. et al. Serum Protein Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Tropomyosin-Related Kinase B in Bipolar Disorder: Effects of Mood Stabilizers. **Neuropsychobiology**, v. 65, n. 2, p. 65–69, 2012.

JENSEN, C. S. et al. Exercise as a potential modulator of inflammation in patients with Alzheimer's disease measured in cerebrospinal fluid and plasma. **Experimental Gerontology**, v. 121, p. 91–98, jul. 2019.

JOPE, R.; ROH, M.-S. Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK3) in Psychiatric Diseases and Therapeutic Interventions. **Current Drug Targets**, v. 7, n. 11, p. 1421–1434, 1 nov. 2006.

JORNADA, L. K. et al. Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain. **Journal of Psychiatric Research**, v. 44, n. 8, p. 506–510, jun. 2010.

JUDD, L. L. et al. Long-term symptomatic status of bipolar I vs. bipolar II disorders. **The International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 6, n. 2, jun. 2003.

JUNG, J. T. K. et al. Strength training Modulates Hippocampal Neuroinflammation and Protects Anxiety-Depression-like Dyad Induced by an Emotional Single Prolonged Stress Model. **Molecular Neurobiology**, v. 60, n. 1, p. 264–276, jan. 2023.

KERAMATIAN, K.; TORRES, I. J.; YATHAM, L. N. Neurocognitive functioning in bipolar disorder: What we know and what we don't. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 23, n. 1, p. 29–38, 1 jan. 2021.

KEYSERS, C.; GAZZOLA, V. Hebbian learning and predictive mirror neurons for actions, sensations and emotions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, n. 1644, p. 20130175, 5 jun. 2014.

- KIRSHENBAUM, G. S. et al. Genetic suppression of agrin reduces mania-like behavior in Na⁺, K⁺-ATPase α 3 mutant mice. **Genes, brain, and behavior**, v. 11, n. 4, p. 436–443, jun. 2012.
- KORTE, M. et al. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 19, p. 8856–8860, 12 set. 1995.
- KORTE, M. et al. A role for BDNF in the late-phase of hippocampal long-term potentiation. **Neuropharmacology**, v. 37, n. 4–5, p. 553–559, abr. 1998.
- KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, v. 1916, p. 69–74, 2019.
- LAU, C. G.; ZUKIN, R. S. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 6, p. 413–426, jun. 2007.
- LIN, C. C. et al. Brain-derived neurotrophic factor protein and mRNA levels in patients with bipolar mania – A preliminary study. **Biomedical Journal**, v. 39, n. 4, p. 272–276, 1 ago. 2016.
- LOGAN, R. W.; MCCLUNG, C. A. Animal models of bipolar mania: The past, present and future. **Neuroscience**, v. 321, p. 163–188, maio 2016.
- LÓPEZ-JARAMILLO, C. et al. Increased hippocampal, thalamus and amygdala volume in long-term lithium-treated bipolar I disorder patients compared with unmedicated patients and healthy subjects. **Bipolar Disorders**, v. 19, n. 1, p. 41–49, 27 fev. 2017.
- LÓPEZ-MUÑOZ, F. et al. A History of the Pharmacological Treatment of Bipolar Disorder. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 7, p. 2143, 23 jul. 2018.
- LU, B.; NAGAPPAN, G.; LU, Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 220, p. 223–250, 2015.
- LU, Y. et al. Treadmill Exercise Exerts Neuroprotection and Regulates Microglial Polarization and Oxidative Stress in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Sporadic Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 56, n. 4, p. 1469–1484, 20 fev. 2017.
- LUEPTOW, L. M. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. **Journal of Visualized Experiments**, n. 126, 30 ago. 2017.
- LYOO, I. K. et al. Lithium-Induced Gray Matter Volume Increase As a Neural Correlate of Treatment Response in Bipolar Disorder: A Longitudinal Brain Imaging Study. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 8, p. 1743–1750, 31 jul. 2010.
- MAHALAKSHMI, B. et al. Possible Neuroprotective Mechanisms of Physical Exercise in Neurodegeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 16, p. 5895, 16 ago. 2020.

- MALENKA, R. C. Synaptic Plasticity and AMPA Receptor Trafficking. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1003, n. 1, p. 1–11, nov. 2003.
- MALHI, G. S.; GESSLER, D.; OUTHRED, T. The use of lithium for the treatment of bipolar disorder: Recommendations from clinical practice guidelines. **Journal of Affective Disorders**, v. 217, p. 266–280, ago. 2017.
- MALHI, G. S.; OUTHRED, T. Therapeutic Mechanisms of Lithium in Bipolar Disorder: Recent Advances and Current Understanding. **CNS Drugs**, v. 30, n. 10, p. 931–949, 14 out. 2016.
- MARNEROS, A. Origin and development of concepts of bipolar mixed states. **Journal of Affective Disorders**, v. 67, n. 1–3, p. 229–240, dez. 2001.
- MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Exercise physiology: nutrition, energy, and human performance**. Eighth edition ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2015.
- MCCLUNG, C. A. Circadian genes, rhythms and the biology of mood disorders. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 114, n. 2, p. 222–232, maio 2007.
- MCINTYRE, R. S. et al. Anxiety disorders and bipolar disorder: a review. **Bipolar Disorders**, v. 8, n. 6, p. 665–676, dez. 2006.
- MELLO, F. K. et al. Neuroprotective effects of thromboxane receptor antagonist SQ 29,548 after pilocarpine-induced status epilepticus in mice. **Epilepsy Research**, v. 160, p. 106277, fev. 2020.
- MERIKANGAS, K. R. et al. Prevalence and Correlates of Bipolar Spectrum Disorder in the World Mental Health Survey Initiative. **Archives of General Psychiatry**, v. 68, n. 3, p. 241, 7 mar. 2011.
- METHANEETHORN, J. Population Pharmacokinetic Analyses of Lithium: A Systematic Review. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 43, n. 1, p. 25–34, 29 fev. 2018.
- MINICHELLO, L. TrkB signalling pathways in LTP and learning. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 12, p. 850–860, dez. 2009.
- MISIAK, B. et al. Cytokines and C-reactive protein alterations with respect to cognitive impairment in schizophrenia and bipolar disorder: A systematic review. **Schizophrenia Research**, v. 192, p. 16–29, fev. 2018.
- MITCHELL, P. B.; LOO, C. K.; GOULD, B. M. Diagnosis and monitoring of bipolar disorder in general practice. **Medical Journal of Australia**, v. 193, n. S4, 16 ago. 2010.
- MONDELLI, V. et al. Stress and Inflammation Reduce Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in First-Episode Psychosis. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 72, n. 12, p. 1677–1684, 15 dez. 2011.
- MORA, E. et al. High BDNF serum levels are associated to good cognitive functioning in bipolar disorder. **European Psychiatry**, v. 60, p. 97–107, 1 ago. 2019.

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 11, n. 1, p. 47–60, 1984.

MOYLAN, S. et al. Exercising the worry away: How inflammation, oxidative and nitrogen stress mediates the beneficial effect of physical activity on anxiety disorder symptoms and behaviours. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 37, n. 4, p. 573–584, maio 2013.

NEVES, B.-H. et al. Physical exercise prevents short and long-term deficits on aversive and recognition memory and attenuates brain oxidative damage induced by maternal deprivation. **Physiology & Behavior**, v. 152, p. 99–105, dez. 2015.

NG, F.; DODD, S.; BERK, M. The effects of physical activity in the acute treatment of bipolar disorder: A pilot study. **Journal of Affective Disorders**, v. 101, n. 1–3, p. 259–262, ago. 2007.

NOVAES GOMES, F. G. et al. The beneficial effects of strength exercise on hippocampal cell proliferation and apoptotic signaling is impaired by anabolic androgenic steroids. **Psychoneuroendocrinology**, v. 50, p. 106–117, dez. 2014.

NURNBERGER, J. I. et al. Identification of pathways for bipolar disorder: a meta-analysis. **JAMA psychiatry**, v. 71, n. 6, p. 657–664, jun. 2014.

O'CONNELL, K. S.; COOMBES, B. J. Genetic contributions to bipolar disorder: current status and future directions. **Psychological Medicine**, v. 51, n. 13, p. 2156–2167, out. 2021.

PAVLOVA, B. et al. Lifetime prevalence of anxiety disorders in people with bipolar disorder: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Psychiatry**, v. 2, n. 8, p. 710–717, ago. 2015.

PAVLOVA, B. et al. Prevalence of current anxiety disorders in people with bipolar disorder during euthymia: a meta-analysis. **Psychological Medicine**, v. 47, n. 6, p. 1107–1115, abr. 2017.

PAXINOS, G. et al. The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition. 2006.

PEDERSEN, B. K.; SALTIN, B. Exercise as medicine – evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 25, n. S3, p. 1–72, dez. 2015.

PEDERSEN, C. B. et al. A comprehensive nationwide study of the incidence rate and lifetime risk for treated mental disorders. **JAMA psychiatry**, v. 71, n. 5, p. 573–581, maio 2014.

PHILLIPS, M. L.; KUPFER, D. J. Bipolar disorder diagnosis: challenges and future directions. **The Lancet**, v. 381, n. 9878, p. 1663–1671, maio 2013.

PINHO, R. A.; AGUIAR, A. S.; RADÁK, Z. Effects of Resistance Exercise on Cerebral Redox Regulation and Cognition: An Interplay Between Muscle and Brain. **Antioxidants**, v. 8, n. 11, p. 529, 6 nov. 2019.

PORTUGAL, E. et al. Aging process, cognitive decline and Alzheimer's disease: can strength training modulate these responses? **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 14, n. 9, p. 1209–1213, 27 nov. 2015.

POWERS, S. K. **Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho.** [s.l.] Editora Manole, 2017.

RADAK, Z. et al. Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 98, p. 187–196, set. 2016.

RAMBO, L. M. et al. Additive anticonvulsant effects of creatine supplementation and physical exercise against pentylenetetrazol-induced seizures. **Neurochemistry International**, v. 55, n. 5, p. 333–340, out. 2009.

RICE, A. C. et al. Status epilepticus causes long-term NMDA receptor-dependent behavioral changes and cognitive deficits. **Epilepsia**, v. 39, n. 11, p. 1148–1157, 1998.

RIEGEL, R. E. et al. Animal model of mania induced by ouabain: Evidence of oxidative stress in submitochondrial particles of the rat brain. **Neurochemistry International**, v. 55, n. 7, p. 491–495, dez. 2009.

ROGGE, A.-K. et al. Balance training improves memory and spatial cognition in healthy adults. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 5661, 18 jul. 2017.

ROMERO-CALVO, I. et al. Reversible Ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. **Analytical Biochemistry**, v. 401, n. 2, p. 318–320, jun. 2010.

ROSENBLAT, J. D. et al. Inflammation as a neurobiological substrate of cognitive impairment in bipolar disorder: Evidence, pathophysiology and treatment implications. **Journal of Affective Disorders**, v. 188, p. 149–159, dez. 2015.

SANDBERG, M. et al. NRF2-regulation in brain health and disease: Implication of cerebral inflammation. **Neuropharmacology**, v. 79, p. 298–306, abr. 2014.

SCHAFFER, A. et al. International Society for Bipolar Disorders Task Force on Suicide: meta-analyses and meta-regression of correlates of suicide attempts and suicide deaths in bipolar disorder. **Bipolar Disorders**, v. 17, n. 1, p. 1–16, fev. 2015.

SEEDAT, S. et al. Cross-national associations between gender and mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. **Archives of General Psychiatry**, v. 66, n. 7, p. 785–795, jul. 2009.

SERRA, F. et al. Agitated depression in bipolar disorder. **Bipolar Disorders**, v. 21, n. 6, p. 547–555, 6 set. 2019.

SERRA, F. T. et al. Resistance exercise improves learning and memory and modulates hippocampal metabolomic profile in aged rats. **Neuroscience Letters**, v. 766, p. 136322, jan. 2022.

SHENGKAI, D.; QIANQIAN, L.; YAZHEN, S. The Effects and Regulatory Mechanism of Flavonoids from Stems and Leaves of *Scutellaria baicalensis* Georgi in Promoting Neurogenesis and Improving Memory Impairment Mediated by the BDNF-ERK-CREB Signaling Pathway in Rats. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 21, n. 4, p. 354–366, 30 ago. 2021.

- SHUY, Y. K. et al. International Trends in Lithium Use for Pharmacotherapy and Clinical Correlates in Bipolar Disorder: A Scoping Review. **Brain Sciences**, v. 14, n. 1, p. 102, 20 jan. 2024.
- SLENTZ, C. A. et al. Inactivity, exercise, and visceral fat. STRRIDE: a randomized, controlled study of exercise intensity and amount. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, n. 4, p. 1613–1618, out. 2005.
- SMITH, L.; JOHNS, L.; MITCHELL, R. Characterizing the experience of auditory verbal hallucinations and accompanying delusions in individuals with a diagnosis of bipolar disorder: A systematic review. **Bipolar Disorders**, v. 19, n. 6, p. 417–433, 14 set. 2017.
- SOLOMON, D. A. et al. Longitudinal Course of Bipolar I Disorder. **Archives of General Psychiatry**, v. 67, n. 4, p. 339, 1 abr. 2010.
- SOUZA, M. A. et al. Swimming training prevents pentylenetetrazol-induced inhibition of Na⁺, K⁺-ATPase activity, seizures, and oxidative stress. **Epilepsia**, v. 50, n. 4, p. 811–823, abr. 2009.
- SOUZA-PEREIRA, A. et al. Swimming training and caffeine supplementation protects against metabolic syndrome-induced nuclear factor- κ B activation and cognitive deficits in rats. **Nutrition Research**, v. 122, p. 19–32, fev. 2024.
- STERN, S. et al. Neurons derived from patients with bipolar disorder divide into intrinsically different sub-populations of neurons, predicting the patients' responsiveness to lithium. **Molecular Psychiatry**, v. 23, n. 6, p. 1453–1465, 28 jun. 2018.
- SWANN, A. C. et al. Bipolar Mixed States: An International Society for Bipolar Disorders Task Force Report of Symptom Structure, Course of Illness, and Diagnosis. **American Journal of Psychiatry**, v. 170, n. 1, p. 31–42, jan. 2013.
- SWEATT, J. D. Toward a Molecular Explanation for Long-Term Potentiation. **Learning & Memory**, v. 6, n. 5, p. 399–416, 1 set. 1999.
- TUON, T. et al. Physical training prevents depressive symptoms and a decrease in brain-derived neurotrophic factor in Parkinson's disease. **Brain Research Bulletin**, v. 108, p. 106–112, set. 2014.
- VALVASSORI, S. S. et al. Lithium and valproate act on the GSK-3 β signaling pathway to reverse manic-like behavior in an animal model of mania induced by ouabain. **Neuropharmacology**, v. 117, p. 447–459, 1 maio 2017.
- VALVASSORI, S. S. et al. Validation of the animal model of bipolar disorder induced by Ouabain: face, construct and predictive perspectives. **Translational psychiatry**, v. 9, n. 1, 1 dez. 2019.
- VALVASSORI, S. S. et al. Ouabain induces memory impairment and alter the BDNF signaling pathway in an animal model of bipolar disorder: Cognitive and neurochemical alterations in BD model. **Journal of affective disorders**, v. 282, p. 1195–1202, 1 mar. 2021.

VAN RHEENEN, T. E. et al. Current understandings of the trajectory and emerging correlates of cognitive impairment in bipolar disorder: An overview of evidence. **Bipolar Disorders**, v. 22, n. 1, p. 13–27, 29 fev. 2020.

VILELA, T. C. et al. Strength and Aerobic Exercises Improve Spatial Memory in Aging Rats Through Stimulating Distinct Neuroplasticity Mechanisms. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 10, p. 7928–7937, dez. 2017.

WEGNER, M. et al. Effects of Exercise on Anxiety and Depression Disorders: Review of Meta- Analyses and Neurobiological Mechanisms. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 13, n. 6, p. 1002–1014, 12 jun. 2014.

WEISLER, R. H. et al. Continuation of Quetiapine Versus Switching to Placebo or Lithium for Maintenance Treatment of Bipolar I Disorder: (Trial 144: A Randomized Controlled Study). **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 72, n. 11, p. 1452–1464, 15 nov. 2011.

YIN, L. et al. Crucial role of androgen receptor in resistance and endurance trainings-induced muscle hypertrophy through IGF-1/IGF-1R- PI3K/Akt- mTOR pathway. **Nutrition & Metabolism**, v. 17, n. 1, p. 26, dez. 2020.

ZANCHI, N. E.; LANCHI, A. H. Mechanical stimuli of skeletal muscle: implications on mTOR/p70s6k and protein synthesis. **European Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 3, p. 253–263, fev. 2008.

ZARATE, C. A.; MANJI, H. K. Protein Kinase C Inhibitors. **CNS Drugs**, v. 23, n. 7, p. 569–582, jul. 2009.