

RICARDO ALEXANDRE TONIOLO

**Ensaio clínico randomizado, duplo-cego,
controlado com placebo, de monidrato de creatina
como terapia adjuvante na depressão bipolar**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Psiquiatria

Orientador: Prof. Dr. Beny Lafer

São Paulo

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Toniolo, Ricardo Alexandre

Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo, de monidrato de creatina como terapia adjuvante na depressão bipolar / Ricardo Alexandre Toniolo. -- São Paulo, 2016.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Psiquiatria.

Orientador: Beny Lafer.

Descritores: 1.Transtorno bipolar 2.Quimioterapia adjuvante 3.Creatina
4.Testes neuropsicológicos 5.Método duplo-cego 6.Ensaio clínico controlado
aleatório

USP/FM/DBD-198/16

Agradecimentos

Ao Instituto e ao Departamento de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - IPq-HCFMUSP, que me têm sempre acolhido como aluno ou colaborador.

Ao Prof. Dr. Beny Lafer, meu orientador. Agradeço-lhe pela oportunidade de fazer parte do PROMAN, por compreender minhas deficiências e por fazer-me crescer em competências, pelo encorajamento em momentos de desânimo, pelo otimismo que me fez persistir neste processo. Inspiram-me o respeito e cuidado que dispensa a todos, sem deixar de zelar pela produtividade do grupo.

Aos meus colegas do PROMAN. Agradeço particularmente aos médicos que receberam meus pacientes no ambulatório quando tive de me dedicar mais a esta tese.

À assistente de pesquisa Michelle Silva, que tudo fez para tornar possível e facilitar o meu trabalho.

À neuropsicóloga Francy de Brito Ferreira Fernandes, por ter ajustado sua agenda às demandas deste estudo e realizado as avaliações neuropsicológicas.

Ao Dr. José Antonio de Mello Siqueira Amaral, que conduz estudo em neuroimagem como adendo a este.

Ao Dr. Rodrigo da Silva Dias, sempre muito generoso e disponível para colaborar.

À minha esposa Andreia, que escolhi como companheira para toda a vida.

Ao meu filho Fernando Henrique, luz de nossa casa!

Ao meu pai (*in memoriam*), que me ensinou pelo exemplo como se deve viver para a família.

À minha querida mãe, que sempre me estimulou a estudar muito!

À minha irmã, quase outra mãe, pelo amor e apoio.

À minha sobrinha e afilhada Rafaella, que quer ser médica como o tio. Quanto a fazer pós-graduação depois e escrever uma tese, ela ainda tem dúvidas...

Esta tese está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Abreviaturas

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Lista de Gráficos

Resumo

Summary

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Depressão bipolar: uma condição mórbida e persistente	1
1.2 Depressão bipolar: um desafio terapêutico	3
1.2.1 O papel dos antidepressivos na depressão bipolar	6
1.2.2 Eficácia aguda dos antidepressivos na depressão bipolar.....	6
1.2.3 Virada maníaca induzida por antidepressivos	7
1.2.4 Antidepressivos no tratamento agudo da depressão bipolar do tipo II	9
1.2.5 A necessidade de novos tratamentos para a depressão bipolar: novos paradigmas	9
1.3 Suplementos alimentares no tratamento da depressão bipolar	11
1.4 Creatina na interface com a fisiopatologia do TB	13
1.4.1 Metabolismo bioenergético celular e o sistema CK/PCr	13
1.4.1.1 O sistema da CK/PCr como tampão temporal de energia.....	17
1.4.1.2 O sistema da CK/PCr como tampão espacial de energia.....	18
1.4.1.3 O sistema da CK/PCr como sistema de transporte de energia.....	20
1.4.1.4 Disfunção do metabolismo bioenergético no TB	21
1.4.2 Metabolismo mitocondrial do cálcio	24
1.4.2.1 Metabolismo mitocondrial do cálcio no TB	26
1.4.2.2 Efeitos da creatina no metabolismo mitocondrial do cálcio	27
1.4.3 Estresse oxidativo	27

1.4.3.1	Estresse oxidativo no TB	29
1.4.3.2	Efeitos da creatina no estresse oxidativo	30
1.4.4	Creatina como neuromodulador no TB	31
1.4.5	Outros possíveis mecanismos terapêuticos da creatina no TB	32
1.4.6	Efeitos cognitivos da creatina e suas implicações no TB.....	32
1.5	Evidências genéticas e de expressão gênica apontam para disfunção mitocondrial no TB.....	34
1.6	Efeitos dos estabilizadores do humor reforçam a hipótese para disfunção mitocondrial no TB.....	35
1.7	Farmacologia da creatina	37
1.7.1	Absorção e distribuição.....	39
1.7.2	<i>Clearance</i>	41
1.7.3	Solubilidade	41
1.7.4	Estabilidade na forma sólida.....	42
1.7.5	Estabilidade em solução	42
1.7.6	Segurança.....	42
1.8	<i>Status</i> regulatório da creatina no Brasil	44
1.9	Creatina em modelos animais	45
1.10	Estudos clínicos com creatina em doenças mitocondriais e neurológicas	46
1.11	Estudos clínicos com creatina em Psiquiatria.....	46
2	JUSTIFICATIVA.....	48
3	OBJETIVOS	50
4	HIPÓTESES	52
5	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	54
5.1	Considerações éticas	55
5.2	Divulgação	55
5.3	Estrutura para execução do projeto.....	55
5.4	Desenho do estudo.....	56
5.4.1	Crítérios de inclusão.....	56
5.4.2	Crítérios de exclusão.....	56
5.4.3	Triagem primária	57
5.4.4	Triagem médica	57
5.4.5	O ensaio clínico	58

5.4.6	Instrumentos de avaliação psiquiátrica	61
5.4.7	Instrumentos de avaliação neuropsicológica	63
5.4.8	Outros instrumentos de avaliação.....	65
5.4.9	Medidas de desfecho	66
5.5	Análise estatística.....	66
6	RESULTADOS	68
6.1	Caracterização da amostra.....	69
6.2	Análise por intenção-de-tratar.....	73
6.3	Análise <i>per-protocol</i>	78
6.4	Avaliação neuropsicológica	79
6.5	Segurança e tolerabilidade	81
7	DISCUSSÃO.....	83
8	CONCLUSÃO	95
9	REFERÊNCIAS	97

Listas

LISTA DE ABREVIATURAS

¹ H-MRS	Espectroscopia por ressonância magnética de próton
³¹ P-MRS	Espectroscopia por ressonância magnética de fósforo
ADP	Difosfato de adenosina
AGAT	Arginina:glicina amidinotransferase
ANT	Translocador de nucleotídeos de adenina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APA	American Psychiatric Association
ARI	Aripiprazol
ATP	Trifosfato de adenosina
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
BOLD	Blood Oxygen Level Dependent effect
BUP	Bupropiona
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CANMAT	Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa –Hospital das Clínicas da FMUSP
CAT	Catalase
CDRS-R	Children’s Depression Rating Scale - Revised)
CGI	Clinical Global Impression
CGI-I	Clinical Global Impression - Improvement
CGI-S	Clinical Global Impression - Severity
CK	creatina-quinase
CK-c	CK citosólica solúvel
CK-g	CK citosólica acoplada à glicólise
C _{max}	concentração máxima
CONSORT	Consolidated Standards Of Reporting Trials

CPTM	Companhia Paulista de Trens Metropolitanos
Cr	Creatina
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DSM-IV	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – 4 ^a edição
DTI	Diffusion tensor imaging
DVP	Divalproato
ECT	Eletroconvulsoterapia
EPA	Ácido eicosapentaenoico
FAST	Functioning Assessment Short Test
FDA	Food and Drug Administration
fMRI	Ressonância magnética funcional
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GAMT	S-adenosilmetionina:guanidinoacetato N-metiltransferase
GSK-3 β	Glicogênio-sintetase-quinase 3 beta
GST	Glutathione S-transferase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HAMD-17	Escala de Depressão de Hamilton – versão de 17 itens
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
IMAO	Inibidor da Monoaminoxidase
IPq – HCFMUSP	Instituto de Psiquiatria do HCFMUSP
ISRS	Inibidor seletivo da recaptação de serotonina
LAM	Lamotrigina
Li	Lítio
LOCF	Last-observation-carried-forward
MADRS	Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale
MPTP	Poros mitocondrial de transição de permeabilidade
mRNA	RNA mensageiro
MRS	Espectroscopia por ressonância magnética
mtCK	CK mitocondrial
NAA	N-acetil-aspartato
NAC	N-acetilcisteína
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NDUFV2	NADH Dehydrogenase (Ubiquinone) Flavoprotein 2
OLZ	Olanzapina

PAF	Platelet-activating factor
PCr	Fosfocreatina
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
Pi	Fosfato inorgânico
PME	Fosfomonoester
PROMAN	Programa de Transtorno Bipolar – IPq-HCFMUSP
QI	Quociente de inteligência
QUE	Quetiapina
RIS	Risperidona
RNA	Ácido ribonucléico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SAMe	S-adenosilmetionina
SCID/P	Structural Clinical Interview for DSM-IV – Patient version
SLC6A8	Solute Carrier Family 6 (Neurotransmitter Transporter), Member 8
SNP	Single nucleotide polymorphism
SOD	Superóxido-dismutase
STEP-BD	Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder
TB	Transtorno afetivo bipolar
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
TGO	Transaminase glutâmico oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico pirúvica
T _{max}	Tempo máximo
TNF	Fator de necrose tumoral
VDAC	Voltage-dependent anion channel
WAIS-III	Escala de Inteligência Wechsler para Adultos
WASI	Escala Wechsler de Inteligência Abreviada
WCST	Wisconsin Card Sorting Test
YMRS	Young Mania Rating Scale
ZIP	Ziprasidona

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Recomendações para o tratamento farmacológico da depressão bipolar do tipo I segundo a CANMAT	5
Tabela 2 -	Procedimentos realizados em cada visita.....	61
Tabela 3 -	Características demográficas e clínicas dos sujeitos que foram seguidos pelo menos até a visita 2 no ensaio clínico ...	71
Tabela 4 -	Pontuações em escalas psicométricas no <i>baseline</i> e na semana 6 dos sujeitos que receberam pelo menos uma reavaliação segundo LOCF	74
Tabela 5 -	Pontuações em escalas psicométricas no <i>baseline</i> e na semana 6 dos sujeitos que completaram o ensaio clínico	78
Tabela 6 -	Características de 18 pacientes com depressão bipolar submetidos a testes neuropsicológicos	80
Tabela 7 -	Mediana e intervalo interquartil da alteração dos testes neuropsicológicos entre a semana 6 e o <i>baseline</i>	80
Tabela 8 -	Eventos adversos ocorridos durante o estudo.....	81
Tabela 9 -	Perfis laboratoriais de sujeitos com depressão bipolar alocados randomicamente a tratamento adjuvante com creatina ou placebo	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Algoritmo para tratamento da depressão bipolar do tipo I segundo a CANMAT	4
Figura 2 -	Anatomia da mitocôndria	14
Figura 3 -	A cadeia de transporte de elétrons	15
Figura 4 -	Metabolismo energético e consequências metabólicas	16
Figura 5 -	Fosforilação da Cr por ATP para formar PCr e ADP	17
Figura 6 -	O sistema da CK/PCr como tampão espacial de energia	19
Figura 7 -	Vias do metabolismo da creatina e sua relação com o ATP	38
Figura 8 -	Diagrama de fluxo do ensaio clínico	70
Figura 9 -	Pontuação média na MADRS considerando-se apenas os pacientes que tiveram pelo menos uma reavaliação	76
Figura 10 -	Pontuação média na HAMD-17 considerando-se apenas os pacientes que tiveram pelo menos uma reavaliação	76
Figura 11 -	Pontuação média na CGI-S considerando-se apenas os pacientes que tiveram pelo menos uma reavaliação	77

Resumo

Toniolo RA. *Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo, de monidrato de creatina como terapia adjuvante na depressão bipolar* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

Os episódios depressivos constituem a principal causa de morbidade e disfuncionalidade para indivíduos acometidos de transtorno bipolar (TB) ao longo do curso da doença. Os tratamentos disponíveis atualmente para esta fase do transtorno possuem eficácia limitada, o que implica na necessidade de pesquisas que busquem novas opções terapêuticas. Os prejuízos cognitivos presentes em todas as fases do TB, incluindo as depressivas, e associados em seu curso evolutivo a neuroprogressão consistem noutra dimensão psicopatológica que não é beneficiada pelos tratamentos farmacológicos atualmente empregados. Uma mudança de paradigma tem-se delineado na literatura nos últimos anos a partir do modelo de pesquisa translacional, na qual novas substâncias, incluindo nutracêuticos, têm sido propostas ou estudadas em ensaios clínicos no tratamento da depressão bipolar. Destacam-se entre estes compostos aqueles que atuam no metabolismo energético e na modulação de funções mitocondriais, em vista de extensa linha de evidências que aponta para a existência no TB de alterações fisiopatológicas nestes aspectos da neurobiologia. Escolhemos o monidrato de creatina como suplemento alimentar a ser estudado como candidato a terapia adjuvante da depressão bipolar, especialmente em razão de sua atuação na bioenergética celular e na potencialização da cognição.

Método: Conduzimos um ensaio clínico duplo-cego em que trinta e cinco (35) pacientes portadores de TB do tipo I ou II em episódio depressivo pelos critérios do DSM-IV e que se encontravam em uso de medicamentos preconizados para o tratamento desta fase da doença foram randomicamente alocados em dois grupos de tratamento adjuvante durante 6 semanas: monidrato de creatina 6 gramas/dia (N=17) ou placebo (N=18). As comparações entre os grupos para as medidas de desfecho escolhidas, sendo determinada como primária a alteração na pontuação na MADRS (Montgomery-Asberg Depression Rating Scale) após 6 semanas, foram realizadas considerando em uma análise principal por intenção-de-tratar os 27 sujeitos (N=16 no grupo creatina; N=11 no grupo placebo) reavaliados em pelo menos uma ocasião ao longo do ensaio clínico, utilizando-se o método da *last-observation-carried-forward* (LOCF). Procedemos também a análises secundárias que avaliaram os desfechos clínicos de 23 pacientes (N=12 no grupo creatina; N=11 no grupo placebo) que completaram as 6 semanas e os desfechos cognitivos de 18 sujeitos (N=9 no grupo creatina; N=9 no grupo placebo) que foram submetidos a uma bateria de testes neuropsicológicos antes e após o tratamento de 6 semanas.

Resultados: Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de

tratamento após 6 semanas nas variáveis clínicas analisadas por intenção-de-tratar ou por-protocolo. O grupo creatina apresentou melhora significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo placebo do desempenho no teste de fluência verbal após as 6 semanas de tratamento. **Conclusão:** O presente estudo, ressalvadas suas limitações metodológicas, não corrobora a hipótese de eficácia do monodrato de creatina como terapia adjuvante da depressão bipolar, mas pode encorajar ensaios clínicos de duração mais prolongada e com amostras maiores que procurem confirmar o efeito potencializador da cognição da creatina nos indivíduos portadores de TB.

Descritores: Transtorno bipolar; Quimioterapia adjuvante; Creatina; Testes neuropsicológicos; Método duplo-cego; Ensaio clínico controlado aleatório.

Summary

Toniolo AD. *A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of creatine monohydrate as adjuvant therapy for bipolar depression* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2016.

Depressive episodes are a major cause of morbidity and dysfunction in individuals suffering from bipolar disorder (BD) throughout the course of the disease. The currently available treatments for bipolar depression have limited efficacy, which implies the need for research on new therapeutic options. The cognitive deficits presented in all stages of BD including depressive and that are associated to neuroprogression consist in another psychopathological dimension which is not affected by current pharmacological treatments. A paradigm shift inspired by the translational research approach has been outlined in the literature in recent years, in which new substances, including nutraceuticals, have been proposed or studied in clinical trials for the therapy of bipolar depression. Prominent among these compounds are those that work in energy metabolism and modulation of mitochondrial function in view of extensive line of evidence pointing to the existence in BD of pathophysiological changes in these aspects of neurobiology. We chose to study the dietary supplement creatine monohydrate as a candidate for adjunctive therapy in bipolar depression, especially due to its role in cellular bioenergetics and enhancement of cognition. **Methods:** We conducted a double-blind trial in which thirty-five (35) patients with BD type I or II in a depressive episode by DSM-IV criteria and in use of regular medication for the treatment of this phase of the disease were randomly allocated into two adjunctive treatment groups for 6 weeks: creatine monohydrate 6 grams daily (N =17) or placebo (N = 18). Comparisons between groups for the chosen outcome measures, being determined as primary the change in score on the MADRS (Montgomery-Asberg Depression Rating Scale) after 6 weeks, were performed considering in a major analysis by intention-to-treat 27 subjects (N=16 in the creatine group; N=11 in the placebo group) reassessed on at least one occasion during the clinical trial using the method of the last-observation-carried-forward (LOCF). We also proceed to a secondary analysis that evaluated the clinical outcomes of 23 patients (N=12 in the creatine group; N=11 in placebo group) who completed the 6 weeks and the cognitive outcomes of 18 subjects (N=9 in the creatine group; N=9 in the placebo group) who were subjected to a battery of neuropsychological tests before and after the 6-week treatment. **Results:** There were no statistically significant differences between treatment groups after 6 weeks in the clinical variables analyzed by intention-to-treat and per-protocol. The creatine group showed significant improvement ($p < 0.05$) in the performance in the verbal fluency test when compared to the placebo group after the 6-week treatment. **Conclusion:** This study, although subject to methodological limitations, does not support the

hypothesis of efficacy of creatine monohydrate as adjunctive therapy for bipolar depression, but it can encourage the execution of clinical trials of longer duration and with larger samples that seek to confirm the cognitive-enhancing effect of creatine in individuals with BD.

Descriptors: Bipolar disorder; Chemotherapy, adjuvant; Creatine; Psychological tests; Double-blind method; Randomized controlled trial.

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Depressão bipolar: uma condição mórbida e persistente

O transtorno do humor bipolar (TB) é uma doença grave e crônica que acarreta grandes prejuízos na vida do indivíduo acometido, de sua família e da sociedade, e que comporta elevado risco de suicídio (Novick et al., 2010). Estimativas indicam que a prevalência do TB ao longo da vida seja de 1% para o TB do tipo I, 1,1% para o TB do tipo II, e 2,4% para o TB sem outra especificação (Merikangas et al., 2007).

Embora tradicionalmente tenha se considerado o episódio maníaco como o mais disfuncional e devastador no curso do TB, estudos têm revelado que os maiores danos são causados pelos episódios depressivos. Aproximadamente 1/3 dos pacientes com TB do tipo I têm maior prevalência ($\geq 2:1$) de episódios depressivos que maníacos. Indivíduos com TB do tipo I experimentam sintomas depressivos por tempo 3 vezes maior ao longo do curso da doença que sintomas maníacos (31,9% vs 9,3%) (Judd et al., 2002; Judd et al., 2003). Também sabemos que sintomas depressivos subsindrômicos são muito mais prevalentes que episódios depressivos no curso do TB (22,9% vs 8,9% do tempo), e que pacientes que permanecem com sintomas residuais após a recuperação de um episódio depressivo têm pior prognóstico (Judd et al., 2008).

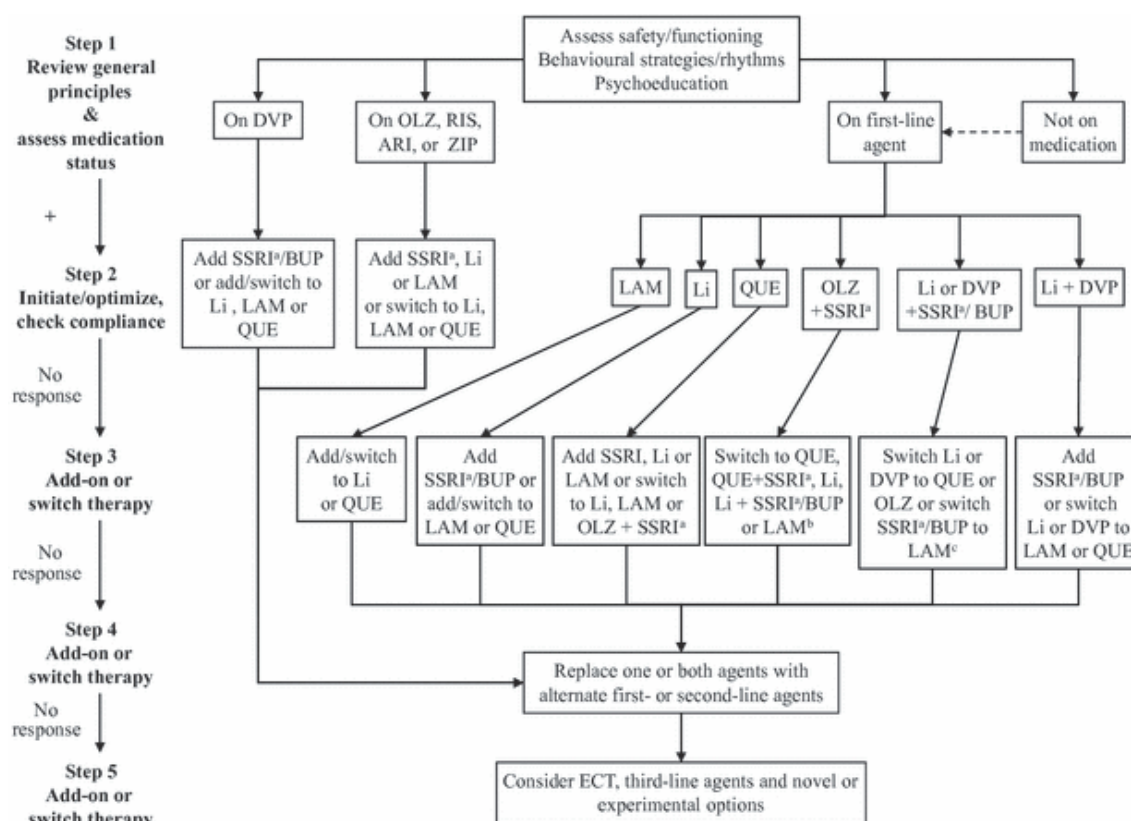
Muitos pacientes com TB permanecem deprimidos em grande parte de suas vidas. Ao longo de um período de 20 anos em que receberam tratamento usual, pacientes com TB do tipo I e II permaneceram 31,9 e 50,3% das semanas, respectivamente, em episódio depressivo ou com sintomas depressivos subsindrômicos (Judd et al., 2002; Judd et al., 2003). A cronicidade destes estados depressivos acarreta significativos prejuízos sociais, ocupacionais e no funcionamento em geral (Coryell et al., 1993; Marangell et al., 2009). Os componentes depressivos do TB estão fortemente associados com incapacidade, déficits cognitivos e aumento de

mortalidade associada a suicídio e outros comportamentos violentos em jovens além de associação com comorbidades clínicas em faixas etárias mais avançadas (Ösby et al., 2001; Whiteford et al., 2011; Kessler et al., 2013).

1.2 Depressão bipolar: um desafio terapêutico

Dados da Stanley Foundation Network indicaram que 45% dos pacientes com TB deprimidos tratados ao longo de um ano com variados esquemas farmacológicos habitualmente empregados na prática clínica não melhoraram ou mesmo pioraram (Post et al., 2010). Neste mesmo estudo, os pacientes que apresentaram melhora utilizaram em média três medicações; 31,8% precisaram de quatro e 13,8% de cinco medicações. Estes dados ilustram o desafio que representa ainda hoje o tratamento eficaz da depressão bipolar.

As diretrizes da CANMAT (*Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments*) constituem na atualidade a referência mais utilizada como guia para o tratamento do TB (Yatham et al., 2013). A Figura 1 e a Tabela 1 reproduzem a proposta desta associação para o tratamento da depressão bipolar aguda do tipo I. Mesmo os tratamentos monoterápicos para depressão bipolar considerados de primeira linha pela CANMAT apresentam taxas de resposta e/ou remissão relativamente baixas, não chegando a atingir a marca de 70% (Calabrese et al., 1999; Frye et al., 2000; Calabrese et al., 2005; Thase et al., 2006; van der Loos et al., 2009; Young et al., 2010; McElroy et al., 2010; Suppes et al., 2010).



Fonte; Yatham et al., 2013

Legenda: Agentes novos / experimentais: pramipexol adjuvante, ácido eicosapentaenoico (EPA), riluzol, topiramato, N-acetilcisteína (NAC), quetamina, armodafinila e cronoterapia. DVP=divalproato; OLZ=olanzapina; RIS=risperidona; ARI=aripirazol; ZIP=ziprasidona; ISRS=inibidor seletivo da recaptção de serotonina; BUP=bupropiona; Li=lítio; LAM=lamotrigina; QUE=quetiapina; ECT=eletrconvulsoterapia; ^a exceto paroxetina; ^b ou trocar para outro ISRS; ^c ou trocar o ISRS ou BUP para outro ISRS ou BUP

Figura 1 - Algoritmo para tratamento da depressão bipolar do tipo I segundo a CANMAT

Tabela 1 - Recomendações para o tratamento farmacológico da depressão bipolar do tipo I segundo a CANMAT

Primeira linha	Monoterapia: lítio, lamotrigina, quetiapina, quetiapina XR Terapia combinada: lítio ou divalproato + ISRS, olanzapina + ISRS, lítio + divalproato, lítio ou divalproato + bupropiona
Segunda linha	Monoterapia: divalproato, lurasidona Terapia combinada: quetiapina + ISRS, modafinila adjuvante, lítio ou divalproato + lamotrigina, lítio ou divalproato + lurasidona
Terceira linha	Monoterapia: carbamazepina, olanzapina, ECT Terapia combinada: lítio + carbamazepina, lítio + pramipexol, lítio ou divalproato + venlafaxina, lítio + IMAO, lítio ou divalproato ou APA + ADT, lítio ou divalproato ou carbamazepina + ISRS + lamotrigina, quetiapina + lamotrigina
Não recomendado	Monoterapia: gabapentina, aripiprazol, ziprasidona Terapia combinada: ziprasidona adjuvante, levetiracetam adjuvante

Fonte: Yatham et al., 2013

Legenda: APA=antipsicótico atípico; ECT=eletroconvulsoterapia; IMAO=inibidor da monoaminoxidase; ADT=antidepressivo tricíclico; ISRS=inibidor seletivo da recaptção de serotonina; XR=liberação prolongada.

Atualmente, apenas dois tratamentos contam com a indicação do *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento agudo da depressão bipolar: quetiapina, para a qual há cinco estudos randomizados controlados com placebo publicados que apóiam sua eficácia (Calabrese et al., 2005; Thase et al., 2006; McElroy et al., 2010; Suppes et al., 2010; Young et al., 2010) e a combinação olanzapina-fluoxetina, para a qual há apenas um estudo publicado (Tohen et al., 2003). Embora os psiquiatras prescrevam estabilizadores do humor e outros antipsicóticos de segunda geração e antidepressivos mesmo sem indicação em bula para tratar a depressão bipolar, os estudos que apóiam a eficácia destes agentes são limitados por amostras pequenas, deficiências no desenho e achados inconsistentes (Lafer; Nery, 2011; Yatham et al., 2013).

1.2.1 O papel dos antidepressivos na depressão bipolar

O papel dos antidepressivos no tratamento da depressão bipolar é uma das questões mais controversas na Psiquiatria (Pacchiarotti et al., 2013). A maioria das diretrizes de consenso publicadas são conservadoras em indicar a prescrição de antidepressivos na depressão bipolar apenas como opção de segunda linha, e preferencialmente por pouco tempo e em combinação com um estabilizador do humor (APA, 2002; Yatham et al., 2013). Entretanto, dadas as opções limitadas para o tratamento desta condição, aproximadamente 50% dos pacientes com TB recebem a prescrição de um antidepressivo, tornando os antidepressivos a classe farmacológica mais prescrita no tratamento do TB na prática clínica (Baldessarini et al., 2007; Schaffer et al., 2007; Goldberg et al., 2009).

1.2.2 Eficácia aguda dos antidepressivos na depressão bipolar

Uma meta-análise inicial de cinco estudos bastante heterogêneos apontou eficácia dos antidepressivos no tratamento da depressão bipolar (Gijsman et al., 2004). Esta meta-análise consistia de estudos pequenos e de um grande estudo com olanzapina (N=463) que apontava eficácia (Tohen et al., 2003). Entretanto, os maiores, mais recentes e metodologicamente mais rigorosos ensaios clínicos de antidepressivos (paroxetina, bupropiona e agomelatina) na depressão bipolar resultaram negativos (Sachs et al., 2007; McElroy et al., 2010). Em um ensaio clínico randomizado controlado (N=336), em que a maioria dos pacientes recebia estabilizadores do humor como lítio ou anticonvulsivantes, comparou-se bupropiona vs paroxetina vs placebo (Sachs et al., 2007). Os antidepressivos apresentaram eficácias equivalentes ao placebo. Outro estudo com grande amostra (n=740) avaliou a monoterapia com antidepressivo numa comparação controlada com placebo de paroxetina vs quetiapina na depressão bipolar do tipo I (McElroy et al., 2010). Ele também encontrou que monoterapia com paroxetina foi

equivalente a placebo, enquanto quetiapina foi mais eficaz. Quando grandes estudos que demonstraram ineficácia foram somados à primeira meta-análise, concluiu-se pela ineficácia dos antidepressivos na depressão bipolar (Sidor; MacQueen, 2011).

O estudo que encontrou maior eficácia na combinação olanzapina-fluoxetina do que no placebo ou olanzapina em monoterapia (Tohen et al., 2003) tem importantes limitações metodológicas: a maioria dos pacientes também estava participando de um estudo em psicoterapia, e uma proporção desconhecida de pacientes continuaram a usar o antidepressivo que estavam tomando no início do estudo.

1.2.3 Virada maníaca induzida por antidepressivos

Ensaio randomizados que avaliaram o risco de viradas com o tratamento com antidepressivos com ou sem um estabilizador do humor são escassos e de difícil interpretação devido limitações metodológicas (Pachiarotti et al., 2013).

A meta-análise de Gijsman et al. não mostrou aumento de viradas para mania com antidepressivos vs placebo (Gijsman et al., 2004). Porém, no maior estudo incluso nela todos os pacientes estavam recebendo olanzapina, que tem efeito preventivo de episódios maníacos (Tohen et al., 2003). A mesma consideração pode ser aplicada no estudo do STEP-BD de tratamento para depressão bipolar (Sachs et al., 2007), onde bupropiona ou paroxetina não estiveram mais associados com virada maníaca que placebo. Todos os pacientes neste estudo estavam tomando medicação antimaníaca (lítio, anticonvulsivantes ou neurolépticos, mesmo em combinação entre si).

Um achado consistente dos ensaios randomizados e controlados em pacientes com TB é de diferenças entre tipos de antidepressivos na sua associação com viradas (Pachiarotti et al., 2013). Em uma meta-análise inicial (Peet, 1994), a taxa de virada foi maior com tri- e tetracíclicos (11,2%)

do que com inibidores seletivos da receptação de serotonina (ISRSs) (3,7%) ou placebo (4,2%). Outras revisões também encontraram maior risco de virada para tri- e tetracíclicos em comparação a ISRSs, IMAOs ou bupropiona (Tondo et al., 2010; Sidor; Mcqueen, 2011). Muitos ensaios clínicos randomizados e controlados na meta-análise de Gijman et al. mostraram que os antidepressivos tricíclicos provocaram mais mania que placebo. Em um ensaio randomizado e controlado, venlafaxina esteve associada com virada maníaca com frequência mais que duas vezes maior quando comparada com outros antidepressivos de geração recente (Leverich et al., 2006). Portanto, parece claro que pelo menos alguns antidepressivos provocam virada maníaca.

Tamada et al. compararam as características clínicas da viradas emergentes com o tratamento com antidepressivo (TEAS – *treatment-emergent affective switch*) em comparação com a mania espontânea e verificaram que as TEAS foram comparativamente menos graves, com menor incidência de sintomas psicóticos e com menor frequência de necessidade de hospitalização. O tempo para remissão ou resposta desde a introdução do tratamento foi semelhante ao da mania espontânea (Tamada et al., 2004). O tratamento com antidepressivo no TB está algumas vezes associado à eclosão de irritabilidade ou agitação que podem ou não estar relacionadas ao fenômeno da virada do humor (Berk et al., 2010). Tais respostas foram denominadas “disforia irritável crônica associada a antidepressivo” e podem ser mais frequentes em pacientes com história de virada associada ao uso de antidepressivo (El-Mallakh et al., 2008) Além disso, muitos casos de depressão agitada em pacientes com TB, marcados por insônia, impulsividade e ideação suicida, foram associados ao início de tratamento com antidepressivo (Koukopoulos et al., 2007).

1.2.4 Antidepressivos no tratamento agudo da depressão bipolar do tipo II

A eficácia dos antidepressivos na depressão bipolar do tipo II tem sido comparativamente menos estudada que na do tipo I. Um estudo não-controlado encontrou segurança e melhora dos sintomas depressivos com venlafaxina (N=17) (Amsterdam, 1998). Um pequeno ensaio randomizado e controlado com placebo (N=10) (Parker et al., 2006) apontou eficácia do escitalopram. Recente estudo randomizado, duplo-cego, de 12 semanas comparou venlafaxina (N=65) com lítio (N=64) em monoterapia para depressão bipolar do tipo II e encontrou taxas maiores de resposta e remissão no grupo que recebeu venlafaxina, e nenhuma diferença estatisticamente significativa na comparação de sintomas hipomaniacos entre os tratamentos (Amsterdam et al., 2016).

A meta-análise de Bond et al. mostrou que as taxas médias de elevações do humor associadas ao tratamento com antidepressivos em estudos que compararam os TBs do tipo I e II foram 14,2% e 7,1%, respectivamente, em ensaios com duração de até 16 semanas; já em ensaios que compararam TB do tipo II com depressão unipolar foram 8,1% e 1,5%, respectivamente. O risco relativo de elevações de humor associadas a tratamento com antidepressivo foi maior no TB do tipo I do que no do tipo II, e maior no TB do tipo II do que na depressão unipolar. As elevações do humor ocorreram quase exclusivamente para hipomania no TB do tipo II (Bond et al., 2008).

1.2.5 A necessidade de novos tratamentos para a depressão bipolar: novos paradigmas

Diante dos dados expostos, que sinalizam pouca eficácia e provável risco de virada com antidepressivos tradicionais, podemos concluir que

novas classes de drogas antidepressivas são necessárias para o tratamento da depressão bipolar.

Os antidepressivos existentes exercem suas ações primariamente sobre os sistemas monoaminérgicos e sua eficácia na depressão unipolar contribuiu para a hipótese de deficiência monoaminérgica da depressão muito estudada nas últimas décadas (Schidkraut, 1965). É possível, no entanto, reconhecer na literatura dos últimos anos os estágios iniciais de uma mudança de paradigma, que busca traduzir os achados da neurociência básica em pesquisas clínicas que busquem intervenções inovadoras (pesquisa translacional), em oposição à abordagem de “mais do mesmo” no desenvolvimento de novas drogas. Uma variedade de compostos que alvejam diversos sistemas biológicos envolvidos na fisiopatologia dos transtornos do humor têm sido propostos e testados para o tratamento dos mesmos - como exemplos, tamoxifeno para ação nos sistemas da proteína-quinase C (PKC) e da GSK-3 β , alopurinol para ação no sistema purinérgico, agomelatina para ação no sistema melatonérgico, quetamina, riluzol e citidina para ação no sistema glutamatérgico, N-acetilcisteína (NAA), acetil-L-carnitina e ácido alfa-lipóico para ação na bioenergética e no estresse oxidativo e mifepristona para ação no sistema glicocorticóide (Machado-Vieira; Zarate, 2011).

Neste contexto, importa aqui ressaltarmos que múltiplas linhas de evidências convergem em implicar fortemente a ocorrência de **disfunção mitocondrial** no TB (Clay et al., 2011) e que potenciais novos tratamentos poderiam exercer efeito antidepressivo a partir de sua atuação na fisiologia da mitocôndria e na bioenergética celular.

Conquanto saibamos que o TB não apresenta muitos dos sintomas característicos das doenças mitocondriais clássicas, podemos conjecturar que determinado grau de disfunção mitocondrial pode não ser suficientemente grave para fazer manifestar uma doença sistêmica, mas sim para causar sintomas neuropsiquiátricos, uma vez que o cérebro requer mais energia que qualquer outro órgão (Peters et al., 2004), representando

aproximadamente 20% do metabolismo de repouso em adultos apesar de constituir apenas 2% da massa corporal (Attwell; Laughlin, 2001; Manji et al., 2012).

Podemos então levantar a hipótese de que substâncias que potencializam a função mitocondrial e o metabolismo energético cerebral (**moduladores mitocondriais**) poderiam melhorar aspectos do TB que são pobremente afetados pelas terapias atualmente empregadas. Esta estratégia inclui, como exemplos, tentativas farmacológicas de se transpor defeitos na cadeia respiratória, neutralizar o excesso de radicais livres, estabilizar a membrana mitocondrial e inibir o poro mitocondrial de transição de permeabilidade (MPTP) (Dimauro et al., 2004).

1.3 Suplementos alimentares no tratamento da depressão bipolar

Suplementos alimentares podem consistir em opção interessante a ser melhor explorada no tratamento da depressão bipolar.

Efeitos adversos dos tratamentos atualmente disponíveis, como ganho de peso e sedação, são comumente citados pelos pacientes como razões primárias para baixa adesão aos mesmos (Rakofsky et al., 2011). Muitos pacientes enxergam os psicotrópicos com ceticismo (Benkert et al., 1997) e preferem utilizar produtos naturais, que são mais consistentes com seus valores e crenças relacionadas à saúde (Astin, 1998).

Suplementos dietéticos são consumidos por cerca de metade da população norte-americana (Gahche et al., 2011). As vendas geraram cerca de US\$32 bilhões de lucro em 2012 (Lariviere, 2013), o que corresponde a cerca de 10% dos lucros atingidos com medicamentos sob prescrição (Bartholow, 2013). Cerca de $\frac{3}{4}$ dos suplementos utilizados pelo público em geral são selecionados por escolha pessoal, e não prescritos por médicos (Bailey et al., 2013). Estudos relatam que 15-36% dos indivíduos acometidos por doença mental tomam suplementos (Knaudt et al., 1999; Russinova et

al., 2002; Matthews et al., 2003; Elkins et al., 2005; Wu et al., 2007). Bauer et al. avaliaram 348 pacientes com TB ao longo de uma média de 249,5 dias através de registro diário de tomada de medicações e encontraram que 29% usaram algum suplemento alimentar (em um total de 40 suplementos diferentes) por pelo menos 7 dias, e 20% em pelo menos 50% dos dias, totalizando 19 suplementos diferentes (Bauer et al., 2015).

Em 1994, o FDA assim definiu um suplemento alimentar:

- 1) um produto que pretende suplementar a dieta e que contém um ou mais dos seguintes ingredientes dietéticos: uma vitamina, um mineral, um aminoácido, uma erva ou outro vegetal; ou
- 2) uma substância dietética usada para suplementar a dieta aumentando a ingestão dietética total; ou
- 3) um concentrado, metabólito, constituinte, extrato ou combinação de qualquer ingrediente descrito previamente;
- 4) o produto não pode representar um alimento convencional ou um item individual de uma refeição ou dieta.

Suplementos alimentares que auxiliem na prevenção ou tratamento de doenças podem ser também chamados de **nutracêuticos**. Embora não se desconsidere que alguns nutracêuticos poderão se mostrar eficazes como monoterapia nos transtornos do humor, especula-se que seu maior papel provavelmente consistiria em potencializar a ação de estabilizadores do humor, antipsicóticos ou antidepressivos mediante efeito sinérgico (Mischoulon, 2009; Sarris et al., 2009). O uso de nutracêuticos eficazes como adjuvantes no TB poderia assim permitir o emprego de doses menores de psicotrópicos, como indica estudo aberto que reportou redução maior que 50% no uso de medicações enquanto os pacientes usaram fórmula com vitaminas e minerais, após no mínimo 6 meses de seguimento (Kaplan et al., 2001).

Diversos suplementos alimentares atualmente disponíveis que atuam como moduladores da função mitocondrial e do metabolismo energético

celular têm sido testados como tratamentos potenciais para o TB (Sarris et al., 2011). Nutracêuticos já estudados como terapia para a depressão bipolar incluem os ácidos graxos ômega-3 (Stoll et al., 1999; Frangou et al., 2006; Keck et al., 2006; Frangou et al., 2007), ácido fólico (Coppen et al., 1986), vitamina C (Naylor et al., 1981; Kay et al., 1984), colina (Lyo et al., 2003), citidina (Yoon et al., 2009), N-acetilcisteína (Berk et al., 2008; Berk et al., 2012), inositol (Chengappa et al., 2000; Eden Evins et al., 2006; Nierenberg et al., 2006), citicolina (Brown et al., 2007; Brown et al., 2012) e a combinação de ácidos graxos ômega-3 + citidina (Murphy et al., 2012). O monidrato de creatina, pela sua segurança, disponibilidade comercial e farmacodinâmica atuante em diversos aspectos que permeiam a fisiopatologia do TB foi o alvo escolhido para estudo no ensaio clínico cuja condução e resultados são descritos nesta tese.

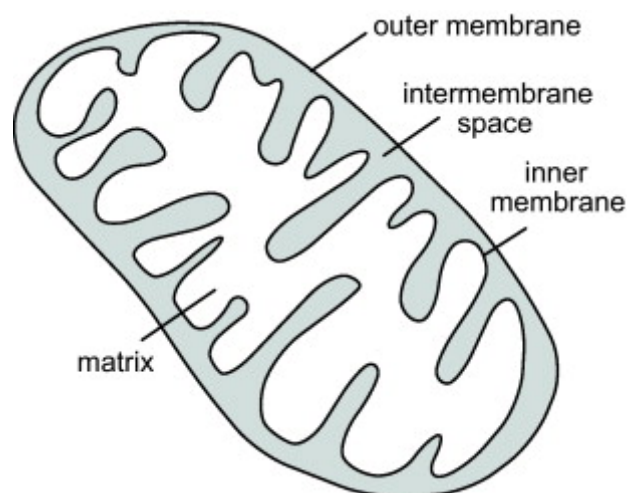
1.4 Creatina na interface com a fisiopatologia do TB

Doravante, e antes de descrever a farmacologia do monidrato de creatina, relatarei que efeitos farmacológicos já documentados da creatina poderiam prometer algum auxílio no tratamento da depressão bipolar, baseando-me em elementos da fisiopatologia do TB.

1.4.1 Metabolismo bioenergético celular e o sistema CK/PCr

As mitocôndrias são organelas celulares circundadas por uma dupla membrana, cada uma composta de uma bicamada lipídica. O **espaço intermembranoso** separa as duas membranas e a **matriz mitocondrial** consiste na área mais interna, circundada pela dupla membrana. A matriz contém as enzimas para o ciclo do ácido cítrico (ou do ácido tricarbóxico, ou de Krebs). A membrana mitocondrial interna é dobrada em cristas a fim

de oferecer maior superfície para a cadeia transportadora de elétrons, um importante componente da mesma (Figura 2).



Fonte: Clay et al., 2011

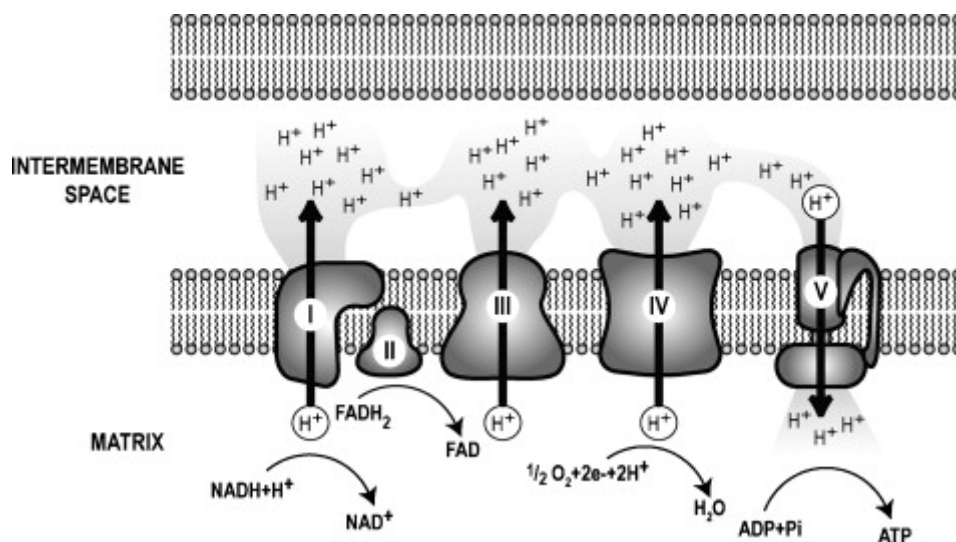
Figura 2 - Anatomia da mitocôndria

A fisiologia mitocondrial compreende a produção de energia através do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa (Figura 4). As mitocôndrias convertem a energia química armazenada em açúcares em fosfatos de alta energia, que é uma forma utilizável de energia celular produzida pela cadeia de transporte de elétrons no processo de fosforilação oxidativa, também conhecido como **respiração** mitocondrial.

Numa primeira etapa, a **glicólise** no citoplasma quebra a glicose em piruvato, o qual é metabolizado para $\text{NADH} + \text{H}^+$ na matriz mitocondrial pelo ciclo de Krebs. $\text{NADH} + \text{H}^+$ então transfere seus elétrons de alta energia para a NADH desidrogenase, que é o complexo I da cadeia de transporte de elétrons. O ciclo de Krebs também produz succinato, que carrega elétrons para o complexo II (succinato desidrogenase). Os elétrons passam dos complexos I ou II para a coenzima Q, depois para o complexo III (coenzima Q:citocromo c redutase) e citocromo c, e então para o complexo

IV (citocromo c oxidase). Elétrons provenientes do complexo IV combinam-se com O_2 para produzir H_2O .

Com cada transferência de um elétron de um carregador para o próximo, o elétron libera energia, a qual é acoplada para o transporte de íons de hidrogênio de matriz para o espaço intermembranoso, resultando em um gradiente eletroquímico através da membrana mitocondrial interna. Os íons de hidrogênio retornam à matriz através do complexo V (ATP sintetase), um evento produtor de energia que é utilizado para sintetizar ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico (Wallace, 1999; Brandon et al., 2005; Wallace, 2005) (Figura 3).



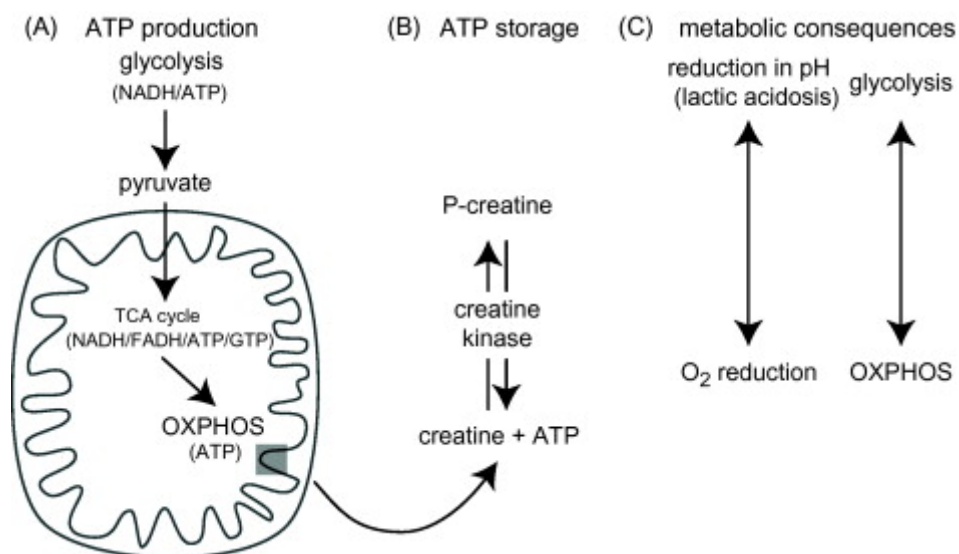
Fonte: Clay et al., 2011

Legenda: I, II, III IV e V: complexos I, II, III, IV e V da cadeia mitocondrial de transporte de elétrons

Figura 3 - A cadeia de transporte de elétrons

Embora o ATP represente a moeda energética universal em todos os organismos e células, os níveis de ATP não são simplesmente suprarregulados em células com demandas de energia altas ou flutuantes. A elevação da concentração intracelular de ATP como reserva imediata de energia, seguida por sua hidrólise, levaria a um acúmulo maciço de ADP e Pi

e ainda liberaria H^+ , acidificando o citosol. Uma vez que isto inibiria as ATPases e muitos outros processos celulares, a evolução desenvolveu um meio de lidar com o problema da restauração imediata dos estoques de ATP. Os chamados fosfágenos evoluíram como compostos de alta energia que são metabolicamente inertes e que portanto não interferem com o metabolismo primário. Um deles, a **fosfocreatina (PCr)**, cuja quinase correspondente é a **creatina-quinase (CK)**, consiste no único fosfágeno encontrado nos vertebrados e em algumas espécies de invertebrados. A CK é abundante em todo o cérebro (Maker et al., 1973; Chandler et al., 1988), e não apenas em neurônios, mas em oligodendrócitos (Manos et al., 1991), astrócitos (Thompson et al., 1980; Yoshimine et al., 1983; Manos et al., 1991) e células da glia (Scalabrini et al., 1989).



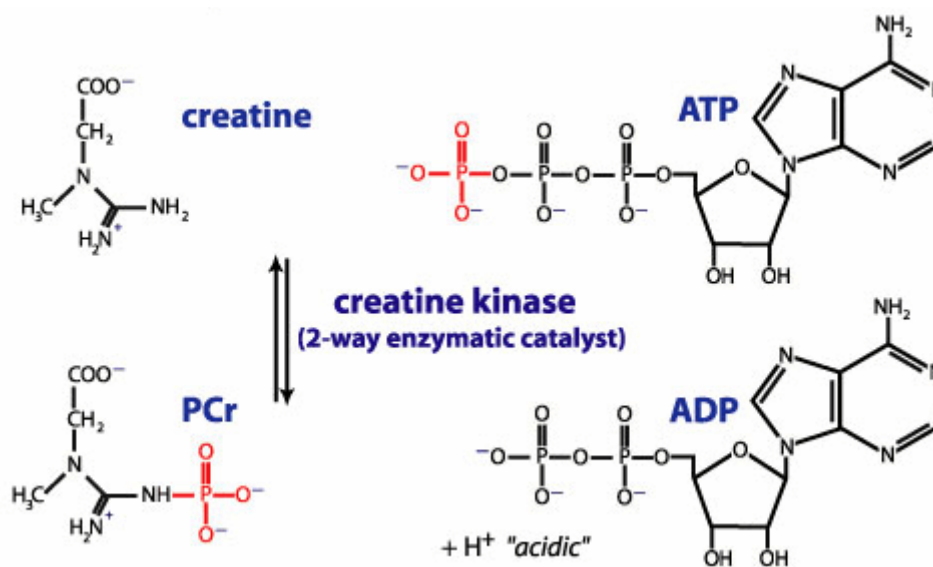
Fonte: Clay et al., 2011

Legenda: OXPHOS: fosforilação oxidativa; TCA: ácido cítrico

Figura 4 - Metabolismo energético e consequências metabólicas

1.4.1.1 O sistema da creatina-quinase/fosfocreatina (CK/PCr) como tampão temporal de energia

A primeira dentre as principais funções do sistema CK/PCr é de um **tampão temporal de energia**. A CK catalisa a reação reversível: $\text{PCr}^{2-} + \text{MgADP}^{-} + \text{H}^{+} \rightleftharpoons \text{CK} \rightarrow \text{MgATP}^{2-} + \text{Cr}$ (Figura 5) e pode então utilizar PCr para regenerar ATP ou alternativamente capturar energia celular imediatamente disponível, estocando até 10 vezes mais energia na forma de PCr que na de ATP. O sistema da CK estabiliza a concentração celular de ATP em aproximadamente 3-6 mM às custas da concentração de PCr, e assim mantém a razão ATP/ADP em um nível bastante elevado ($\geq 100:1$). Isso garante o uso eficiente do ATP para todos os tipos de funções celulares, isto é, a energia ganha por ATP hidrolisado é mantida num máximo fisiológico (Wallimann et al., 1992; Wallimann et al., 2007). A reação da CK regenera o ATP numa taxa 40 vezes mais rápida que a fosforilação oxidativa e 10 vezes mais rápida que a glicólise (Wallimann et al., 1992). A PCr age, desta forma, como que “escondendo” o ATP numa forma prontamente acessível.



Legenda: ATP: trifosfato de adenosina; ADP: difosfato de adenosina; PCr: fosfocreatina

Figura 5 - Fosforilação da Cr por ATP para formar PCr e ADP

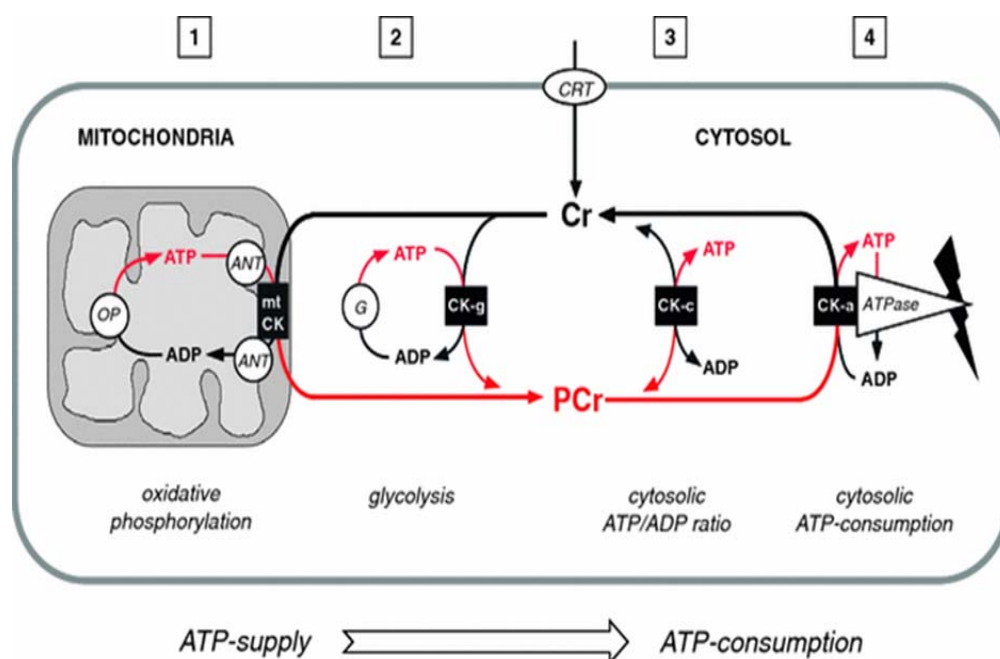
1.4.1.2 O sistema da CK/PCr como tampão espacial de energia

Existem duas isoenzimas diferentes de CK na maioria dos tecidos, localizadas em diferentes regiões celulares. A CK citosólica é um dímero associado com estruturas subcelulares no citoplasma. A CK mitocondrial encontra-se na forma dimérica ou octamérica e é encontrada nas cristas ou no espaço intermembranoso das mitocôndrias. A localização diferente nas células das isoformas de CK são essenciais para o funcionamento do sistema da CK (Wallimann et al., 1992; Wallimann et al., 2007).

A Cr importada é incorporada na PCr pela ação pela CK citosólica solúvel (CK-c), pela CK citosólica acoplada à glicólise (CK-g), ou pela CK mitocondrial (mtCK) acoplada à fosforilação oxidativa, o que resulta, em equilíbrio, numa distribuição da reserva de Cr em aproximadamente dois terços de PCr e um terço de Cr, e em alta razão ATP/ADP.

A base molecular para o **tamponamento espacial de energia** consiste em microcompartimentos subcelulares de CK acoplados funcionalmente, em sítios onde a produção ou o consumo de ATP estão intimamente conectados com a ação da CK/PCr. Nestes sítios subcelulares, as reações da CK podem correr em sentidos diferentes, mas no nível celular geral o sistema permanece como que em equilíbrio.

Dentro destes microcompartimentos funcionais, a CK regenera o ATP utilizado a partir da vasta reserva de PCr. Estes microcompartimentos associados a CK representam o lado consumidor de ATP/PCr do sistema CK/PCr. No lado gerador de ATP/PCr do sistema, há os microcompartimentos glicocogenolíticos/glicolíticos CK-g e o microcompartimento mtCK conectado à fosforilação oxidativa e às reações de canalização de energia no interior da mitocôndria. A mtCK tem acesso preferencial ao ATP gerado pela fosforilação oxidativa através do translocador de nucleotídeos de adenina (ANT) da membrana mitocondrial interna; assim, o ATP mitocondrial é transfosforilado em PCr, a qual então deixa a mitocôndria (Dolder et al., 2003; Schlattner et al., 2011) (Figura 6).



Fonte: Wallimann et al., 2011

Legenda: OP: fosforilação oxidativa; ANT: transportador de nucleotídeos de adenina; mtCK: creatina-quinase mitocondrial; CK-g, CK-a e CK-c: frações de creatina-quinase citosólicas; CRT: transportador de creatina

Figura 6 - O sistema da CK/PCr como tampão espacial de energia

O acoplamento funcional do ANT à mtCK leva à saturação da mtCK com o ATP entregue pela ANT, e ao mesmo tempo a uma razão ATP/ADP elevada na vizinhança da mtCK. Em combinação com a Cr citosólica que entra no espaço intermembranoso via VDAC (*voltage-dependent anion channel*), estas condições favorecem a síntese de PCr a partir do ATP pela mtCK sem perda de energia. Isto mantém a eficiência termodinâmica máxima para a síntese e canalização de fosfato de alta energia, que em forma de PCr é exportado para o citosol (Dolder et al., 2003).

Tal sequência de reações representa um exemplo instrutivo de acoplamento funcional e canalização metabólica. A troca ativa ATP/ADP mantida pela mtCK acoplada favorece a geração de ATP pela ATPases e o funcionamento adequado da cadeia respiratória, evitando a transferência fútil de elétrons, a qual poderia de outra forma gerar níveis elevados de

superóxido e de espécies reativas de oxigênio (Vendelin et al., 2004; Schlattner et al., 2011). De fato, a respiração mitocondrial na presença de Cr necessita de apenas concentrações micromolares de ADP para ser plenamente estimulada, enquanto na ausência de Cr concentrações comparativamente elevadas de ADP na faixa milimolar são necessárias para uma taxa respiratória semelhante (Kay et al., 2000; Saks et al., 2000). Este importante fenômeno é chamado de **respiração estimulada por creatina** (Kay et al., 2000).

Durante períodos transitórios de alta demanda energética, PCr é rapidamente convertida em creatina a fim de doar um elétron de alta energia para o ADP para manter a concentração intracelular de ATP (Erecinska; Silver, 1989; Sauter; Rudin, 1993). Enquanto diminuições de curto prazo na concentração cerebral de PCr podem refletir respostas fisiológicas típicas à atividade neuronal, anormalidades de longo prazo na concentração cerebral de PCr geralmente refletem suprimento metabólico insuficiente de ATP, possivelmente devido a disfunção mitocondrial subjacente que leva a déficits na fosforilação oxidativa (Rothman, 1994).

1.4.1.3 O sistema da CK/PCr como sistema de transporte de energia

PCr e Cr são mais adequadas como moléculas de transporte que o ATP e o ADP, pois são moléculas menores e com pouca ou nenhuma carga negativa em comparação aos nucleotídeos de adenina, facilitando o transporte de energia por longas distâncias no interior da célula (Schlattner et al., 2006a,b; Wallimann et al., 2007). O sistema de transporte de energia CK/PCr (Schlattner et al., 2006a,b; Wallimann et al., 2007) conecta sítios de produção de ATP (glicólise e fosforilação oxidativa mitocondrial) com sítios subcelulares de utilização de ATP (ATPases).

Tendo até aqui explanado com algum detalhamento o metabolismo energético, passo a apresentar evidências da disfunção do mesmo no TB

para depois contextualizar os efeitos fisiológicos da creatina em estratégia terapêutica que alveja esta faceta da fisiopatologia da doença.

1.4.1.4 Disfunção do metabolismo bioenergético no TB

Várias linhas de pesquisa sinalizam que a fisiopatologia do TB envolve disfunção no metabolismo bioenergético.

Naydenov et al. (2007) obtiveram linfócitos de pacientes com TB e controles saudáveis e examinaram diferenças no padrão de expressão de genes da cadeia transportadora de elétrons em resposta a estresse energético. Este estudo não mostrou diferença entre pacientes e controles sob concentrações normais de glicose. Quando os linfócitos cultivados foram expostos a privação de glicose, entretanto, os linfócitos de pacientes com TB exibiram expressão reduzida de genes da cadeia, enquanto os controles saudáveis aumentaram uniformemente a expressão dos mesmos. Este padrão sugere uma inabilidade das mitocôndrias nos pacientes com TB em adaptarem-se a estresse energético.

Estudos relataram uma redução na atividade do complexo I da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial em tecido cerebral *postmortem* pré-frontal no TB (Andreazza, 2009) e expressão alterada de subunidades do complexo I (Konradi et al., 2004; Sun et al., 2006). É interessante que lítio aumenta a atividade dos complexos I/II e II/III em tecido cerebral humano (Maurer et al., 2009).

As pesquisas com espectroscopia de ressonância magnética (*Magnetic Resonance Spectroscopy* - MRS) cerebral proveram alguns *insights* sobre a possível natureza da disfunção mitocondrial no TB (Stork; Renshaw, 2005).

Sob estresse energético, as células lançam mão da glicólise para obterem rapidamente energia do ATP. Durante este processo de respiração celular anaeróbica, NADH_2 é convertido em NAD, reduzindo o piruvato a lactato e provocando uma queda subsequente no pH intracelular. Embora a

glicólise seja um processo que disponibilize energia prontamente, ela só fabrica 2 ATP por molécula de glicose, em contraste aos 36 ATP produzidos através da fosforilação oxidativa. No TB, estudos de MRS sugerem que os neurônios estão constantemente lançando mão da glicólise para produzirem energia, e que a produção mitocondrial de energia no TB encontra-se inibida. Pesquisas com ^{31}P -MRS mostraram consistente diminuição do pH em pacientes com TB, e também sugeriram que esta alteração pode ser estado-dependente. Estudos encontraram diminuição do pH em gânglios da base (Hamakawa et al., 2004) e cérebro total (Kato et al., 1992; Kato et al., 1993; Kato et al., 1998; Hamakawa et al., 2004) de pacientes com TB em eutímia. Alguns destes mesmos estudos também indicaram que pacientes em estado depressivo (Kato et al., 1992) ou maníaco (Kato et al., 1993) apresentavam pH mais elevado que os eutímicos. Uma vez que o pH está correlacionado com a duração do tratamento com lítio (Kato et al., 1994a) e menor pH está associado com melhor resposta a lítio (Kato; Kato, 2000), é improvável que a redução do pH nos eutímicos tenha sido devida a litioterapia. Ao invés, Kato e Kato levantaram a hipótese de que a diminuição do pH intracelular observada em pacientes com TB eutímicos seja um traço da doença, e que os estados maníacos e depressivos sejam pelo menos parcialmente causados pela tentativa do cérebro de corrigir este desbalanço do pH através de hiperativação dos sistemas monoaminérgicos, o que aumenta o pH pelo menos nos neurônios hipocámpais (Smith et al., 1998). Esta teoria explicaria o pH mais normal encontrado em pacientes com TB deprimidos ou maníacos (Kato; Kato, 2000).

Diversos estudos com ^1H -MRS mostraram diminuição do N-acetil-aspartato (NAA) cerebral em pacientes com TB comparados a controles saudáveis (Winsberg et al., 2000; Cecil et al., 2002; Chang et al., 2003; Bertolino et al., 2003; Deicken et al., 2003). Níveis reduzidos de NAA indicam prejuízo na produção energética mitocondrial (Clark, 1998), pois a NAA é sintetizada na mitocôndria e constitui componente importante do chamado mini-ciclo do ácido cítrico (Madhavarao et al., 2003).

Vários estudos com ^{31}P -MRS que apontaram associação entre níveis diminuídos de PCr e TB fortalecem a hipótese de disfunção bioenergética no TB. Pacientes com TB deprimidos apresentaram significativa redução do PCr no lobo frontal esquerdo, enquanto maníacos e eutímicos o apresentaram no lobo frontal direito, quando comparados aos controles. Além disso, os níveis de PCr estiveram negativamente correlacionados com a pontuação na HAMD (Kato et al., 1995). Um estudo similar também relatou redução da PCr no cérebro total de pacientes com TB do tipo II, mas não do tipo I (Kato et al., 1994b). Pacientes com TB também apresentaram assimetria direita-esquerda nos níveis de PCr (Deicken et al., 1995). PCr esteve diminuído em substância cinzenta e ATP diminuído em substância branca em adolescentes com TB do tipo I maníacos e eutímicos (Dudley, 2016). Pacientes com TB com o polimorfismo val66met do gene de BDNF, o qual está associado com ciclagem rápida (Müller et al., 2006), apresentaram baixos níveis de PCr + Cr no córtex pré-frontal dorsolateral (Frey et al., 2007).

Um recente estudo demonstrou que pacientes com TB apresentaram deficiência na disponibilização de ATP a partir de PCr através da CK em lobo occipital durante estimulação visual como paradigma de aumento de demanda energética (Yuksel, 2015).

Anormalidades no metabolismo lipídico de membranas, um processo que representa 10-15% do consumo energético da célula (Purdon; Rapoport, 1998), também foram encontrados no TB e apoiam a hipótese de disfunção mitocondrial e bioenergética neste transtorno. Diversos estudos encontraram níveis totais de colina elevados no TB (Lafer et al., 1994; Hamakawa et al., 1998; Moore et al., 2000). Também pacientes com TB eutímicos mostraram níveis diminuídos de fosfomonoester (PME) quando comparados com voluntários saudáveis (Yildiz et al., 2011).

Estudos com tomografia por emissão de pósitrons (PET) também demonstraram que o metabolismo cerebral da glicose está diminuído no cérebro de pacientes com TB em episódio depressivo ou misto (Baxter et al.,

1985; Buchsbaum et al., 1986; Baxter et al., 1989; Cohen et al., 1989; Delvenne et al., 1990; Drevets et al., 1997), enquanto outros demonstraram que o mesmo se eleva com a remissão dos sintomas (Ketter et al., 2001) ou com a mudança para um estado eufímico ou hipomaníaco (Baxter et al., 1985). Há evidências de que na mania haja aumento na taxa metabólica basal independentemente da ingestão calórica (Caliyurt; Altıay, 2009).

O líquor de pacientes com TB apresentou níveis de lactato e glicose elevados, também indicando um desvio da respiração mitocondrial para a glicólise (Regenold et al., 2009).

Em resumo, os estudos mostram evidências robustas de disfunção do metabolismo energético no TB e encorajam que testemos compostos com potencial de minorar esta disfunção visando o tratamento das fases agudas e a profilaxia.

1.4.2 Metabolismo mitocondrial do cálcio

Além de prover energia para a célula, as mitocôndrias formam microdomínios com locais para influxo de cálcio, contribuindo para o tamponamento do Ca^{2+} citosólico (Rizzuto; Pozzan, 2006). A difusão do íon livre de Ca^{2+} em regiões subcelulares é normalmente discreta e de curta duração. O Ca^{2+} liberado no citosol tanto de fontes externas (como o receptor NMDA) ou do retículo endoplasmático é capturado pelas mitocôndrias e liberado lentamente, prevenindo níveis altos de Ca^{2+} citosólico que poderiam provocar excitotoxicidade (Baron et al., 2003; Rizzuto; Pozzan, 2006). A captura de Ca^{2+} no interior da mitocôndria estimula enzimas do ciclo do ácido cítrico e incrementa a síntese de ATP através do aumento da produção de $\text{NADH}+\text{H}^+$ (Orrenius et al., 2003). Isto é importante, dado que o Ca^{2+} ativa diversos processos celulares com alta demanda energética.

Um movimento muito grande de Ca^{2+} para o interior da mitocôndria exerce um efeito despolarizante e pode superar a capacidade mitocondrial de exportar prótons e outros cátions, o que pode fazer cessar a síntese de ATP e iniciar o processo de apoptose.

A captura de Ca^{2+} no interior da mitocôndria pode ativar o poro mitocondrial de transição de permeabilidade (MPTP), um canal que atravessa as membranas mitocondriais interna e externa (Chalmers; Nichols, 2003). A literatura aponta que diversos fatores podem facilitar a formação e abertura do MPTP: (1) acúmulo de Ca^{2+} ; (2) redução do potencial de membrana; (3) aumento no fosfato inorgânico; (4) redução dos nucleotídeos de adenina (ATP e ADP); (5) elevações do estresse oxidativo. Uma vez que a formação e abertura do MPTP tenha ocorrido pela combinação de quaisquer destes fatores, proteínas pró-apoptóticas (citocromo c, pró-caspases) podem ser liberadas do espaço intermembranoso no citosol, ativando caspases e irreversivelmente desencadeando apoptose (Di Lisa et al., 2006). O influxo e efluxo de cálcio no citosol tem importantes consequências para a atividade neuronal e glial, modulando respostas intracelulares fisiológicas e patofisiológicas (Simpson; Russell, 1998). Os íons de cálcio influenciam a síntese e liberação de neurotransmissores, a sinalização de receptores, o potencial de ação e a periodicidade neuronal (Wolff et al., 1977; Torok, 1989; Kandel et al., 2000).

As mitocôndrias exercem papéis importantes na citoproteção e plasticidade sináptica. A abertura do MPTP tem consequências importantes não apenas no que se refere a apoptose, mas também contribui para a plasticidade sináptica e aprendizagem (Bernardi et al., 1998; Weeber et al., 2002; Yang et al., 2003). Evidências crescentes sugerem que a ativação das cascatas apoptóticas mitocondriais pode levar a um processo de “apoptose sináptica” ativado de uma maneira bastante localizada (Culmsee; Mattson, 2005). Neste fenômeno, sinapses individuais ou neuritos podem seletivamente sofrer atrofia, providenciando assim um mecanismo para a perda de sinapses em processos tanto fisiológicos quanto patofisiológicos. A sinalização apoptótica no compartimento sináptico também parece ter alguns

efeitos sinapse-específicos, como a degradação de certos receptores de glutamato (Glazner et al., 2000).

O aumento da atividade sináptica induz a expressão de genes codificados na mitocôndria, sugerindo que uma suprarregulação duradoura da produção de energia pode ser provocada pela própria atividade sináptica, o que regularia a força da sinapse no longo prazo (Williams et al., 1998; Mattson; Liu, 2003). Portanto, disfunção mitocondrial de longo prazo parece estar associada com morte celular, enquanto disfunção mitocondrial mais sutil está associada com disfunção sináptica “aqui e agora”.

1.4.2.1 Metabolismo mitocondrial do cálcio no TB

Perturbações nas cascatas de regulação do Ca^{2+} tem sido uma das anormalidades biológicas mais consistentemente relatadas nas pesquisas em TB, conforme revisão publicada por Quiroz et al. em 2008. Os estudos têm revelado elevação nos níveis intracelulares basais de Ca^{2+} em plaquetas, linfócitos e neutrófilos de pacientes com TB. Maiores elevações nos níveis de Ca^{2+} em plaquetas em pacientes com TB também foram observadas na resposta à estimulação com trombina, PAF, serotonina, dopamina e taspigargina quando comparado com voluntários saudáveis ou pacientes com depressão unipolar. De maneira semelhante, maiores elevações foram observadas em linfócitos quando as células foram estimuladas com fitoemaglutinina, concavalina A e trombina. O fato de que a desregulação do cálcio é observada em resposta a tantos estímulos diferentes sugere que a anormalidade não se deva simplesmente a atividade alterada de receptores específicos, mas talvez a perturbações no sequestro ou liberação de cálcio pelas mitocôndrias.

1.4.2.2 Efeitos da creatina no metabolismo mitocondrial do cálcio

A suplementação com creatina parece interferir no metabolismo do cálcio de modos mais ou menos diretos. Em ratos, ela estimulou a entrada de glutamato nos astrócitos mediada pela PCr (Xu et al., 1996). Também observou-se que hepatócitos de ratos transgênicos modificados para expressarem mtCK no fígado foram protegidos de inchaço nas mitocôndrias e apoptose pela adição de creatina (Dolder et al., 2003). Tais ratos também apresentaram grande tolerância a hipóxia (Miller et al., 1993), toxinas (Hatano et al., 1996) e TNF (Hatano et al., 2004) após suplementação com creatina. Creatina parece portanto não apenas estimular a respiração mitocondrial, mas ter papel protetor das mitocôndrias e antiapoptótico (Brdiczka et al., 2006). Creatina e PCr atenuaram a inativação da mtCK e a dimerização e abertura do MPTP mediadas por peroxinitrito (Tarnopolsky et al., 2004a).

1.4.3 Estresse oxidativo

Estimativas variadas posicionam entre 0,15-3% a fração de elétrons que, fluindo pela cadeia transportadora mitocondrial, terminam como radicais livres de oxigênio (ROS, *reactive oxygen species*), principalmente nos complexos I e III, de modo que os níveis mitocondriais de ROS são 5-10 vezes maiores que os citosólicos (Grivennikova; Vinogradov, 2006; Raha; Robinson, 2000). O cérebro é particularmente vulnerável à produção de ROS porque ele metaboliza 20% do oxigênio corporal total e tem uma capacidade antioxidante limitada (Valeska; Floyd, 1985).

No estado basal, cerca de 1-5% de todo o oxigênio consumido pela célula é convertido em ROS (Lee; Wei, 2005), mas estes são produzidos em maior quantidade após insultos mitocondriais, como excesso de Ca^{2+} ou exposição a toxinas mitocondriais. ROS são produzidos quando elétrons são prematuramente liberados de complexos no início da cadeia transportadora

de elétrons, o que resulta na produção de ânions superóxido. Ânions superóxido podem ser convertidos em H_2O_2 pela superóxido-dismutase, e em água pela glutathiona-peroxidase ou catalase (Wallace, 2005). Quando os ROS não são neutralizados, eles danificam proteínas, lipídeos e ácidos nucléicos. Na cadeia transportadores de elétrons, as pontes Fe-S que mediam o transporte de elétrons nos complexos I e III são as mais suscetíveis a dano (Wallace, 2005). O DNA mitocondrial também é particularmente vulnerável a estresse oxidativo, uma vez que está localizado no principal sítio de produção de ROS e não contém histonas protetoras. O dano oxidativo ao DNA mitocondrial provoca mutações pontuais, mas também pode resultar em grandes deleções.. Entretanto, o acúmulo de ROS na matriz é de alguma forma limitada por enzimas antioxidantes mitocondriais (Adhietty; Hood, 2003).

Espécies reativas de oxigênio (ROS) mitocondriais podem induzir diretamente a dissociação do citocromo c da membrana mitocondrial interna e sua subsequente liberação da organela. Adicionalmente, ROS podem interagir diretamente com o MPTP e facilitar sua abertura (Adhietty; Beal, 2008). ROS podem também indiretamente influenciar a via apoptótica ativando proteína-quinases ativadas por mitógenos (MAPKs) e diversos fatores de transcrição redox-sensitivos envolvidos na expressão de genes tanto anti quanto pró-apoptóticos (Adhietty; Hood, 2003).

O sistema de defesa antioxidante primário tem sido estudado em diversos transtornos psiquiátricos e envolve efeitos coordenados induzidos pela superóxido-dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona (Reddy et al., 1991; Kapczinski et al., 2008). SOD é uma enzima protetora que pode “varrer” seletivamente o radical ânion superóxido (O_2^-), catalisando sua dismutação em peróxido de hidrogênio. CAT metaboliza o excesso de H_2O_2 produzindo $O_2 + H_2O$. Níveis elevados de SOD/CAT resultam em aumento da concentração de H_2O_2 ou aumento da taxa de produção de H_2O_2 e pode levar a oxidação de lipídeos e proteínas, resultando em aumento do dano neuronal (Andreazza et al., 2008).

1.4.3.1 Estresse oxidativo no TB

Diversas linhas de pesquisa indicam haver aumento de estresse oxidativo no TB.

Uma meta-análise revelou que os níveis de peroxidação lipídica, a atividade do óxido nítrico (NO) e os danos ao DNA/RNA estão aumentados em indivíduos com TB (Brown et al., 2014).

Kuloglu et al. demonstrou aumento de peroxidação lipídica no sangue de pacientes com TB (Kuloglu et al., 2002) e Machado-Vieira et al. relataram as mesmas anormalidades no plasma de pacientes em mania comparados a controles e pacientes medicados com lítio (Machado-Vieira et al., 2007). Foram também encontrados níveis mais elevados de peroxidação lipídica no córtex cingulado de pacientes com TB (Wang et al., 2009). No córtex pré-frontal de pacientes com TB, a diminuição da atividade do complexo I esteve associada a aumento da nitrosilação e oxidação lipídicas (Andreazza et al., 2010).

Um estudo demonstrou correlação negativa entre níveis séricos de TBARS e BDNF em pacientes com TB (Kapczinski et al., 2008), sugerindo que alterações no *status* oxidativo pode estar associado com os níveis anormalmente baixos de BDNF observados em indivíduos com TB.

Andreazza et al. demonstraram que pacientes com TB apresentaram uma frequência aumentada de dano ao DNA quando comparados a controles, e que a frequência de dano ao DNA estava correlacionada com a gravidade da depressão ou da mania (Andreazza et al., 2007b). Em um estudo *postmortem*, verificou-se que a fragmentação do DNA esteve aumentada em neurônios não-GABAérgicos no córtex cingulado anterior de indivíduos com TB quando comparados com controles (Buttner et al., 2007).

A literatura sugere que aumento na atividade da SOD está associada com TB (Abdalla et al., 1986; Kuloglu et al., 2002). Kunz et al. mostraram que a atividade da SOD esteve aumentada apenas em fases agudas do TB, e não em eutímicos (Kunz et al., 2008), o que pode estar ligado a um

mecanismo compensatório em resposta à superprodução de ROS durante um episódio agudo. Andreazza et al. encontraram aumento da atividade da SOD durante episódios depressivos e maníacos do TB, mas não na eutímia (Andreazza et al., 2007a), o que foi corroborado em parte por Machado-Vieira et al., que encontraram aumento da atividade da SOD em pacientes em mania não-medicados (Machado-Vieira et al., 2007). A atividade da catalase esteve diminuída em pacientes eufímicos (Andreazza et al., 2007a) e aumentada em pacientes maníacos não-medicados (Machado-Vieira et al., 2007).

Há dados indicando haver provavelmente mudanças em parâmetros oxidativos conforme o estágio da doença. A atividade da glutathione-redutase e da glutathione S-transferase (GST) estiveram aumentadas em pacientes com longa história de TB, quando comparados a pacientes com início recente da doença ou controles (Andreazza et al., 2009), o que pode se dever à falência de mecanismos compensatórios ao longo do tempo. Por outro lado, estudos demonstraram aumento da peroxidação lipídica independente da fase da doença (Andreazza et al., 2008; Machado-Vieira et al., 2007).

Lítio e valproato parecem diminuir a peroxidação lipídica induzida por glutamato e a oxidação de proteínas, e inibir a fragmentação do DNA induzida por glutamato em neurônios do córtex cerebral (Shao et al., 2005). N-acetilcisteína, um precursor de glutathione e neutralizador de radicais livres, reduziu sintomas depressivos e melhorou a qualidade de vida em pacientes com TB (Berk et al., 2007).

1.4.3.2 Efeitos da creatina no estresse oxidativo

Já se verificou que a creatina tem propriedades antioxidantes (Klivenyi et al., 1999; Sullivan et al., 2000; Andreassen et al., 2001; Adcock et al., 2002; Lawler et al., 2002; Tarnopolsky et al., 2004). Por exemplo, creatina reduziu marcadores de estresse oxidativo em modelos animais de doença

de Huntington (Andreassen et al., 2001) e esclerose lateral amiotrófica (Klivenyi et al., 1999). Creatina mostrou-se capaz de remover superóxido e peroxinitrito em ação antioxidante direta com poder até mesmo superior ao da glutatona (Lawler et al., 2002; Sestili et al., 2006).

Mais do que funcionar como acceptor de elétron desemparelhado, a creatina provavelmente funciona como antioxidante principalmente através de uma potencialização da transdução de energia (uma função antioxidante indireta). Ela também atua indiretamente como antioxidante através da inativação da mtCK e da abertura do MPTP (O’Gorman et al., 1997; Pulido et al., 1998; Koufen et al., 1999) e do aumento da captura de glutamato para o interior das vesículas sinápticas, o que pode atenuar a excitotoxicidade neuronal (Xu et al., 1996).

Creatina parece reduzir a produção intra-mitocondrial de ROS, elevar e preservar o potencial de membrana mitocondrial (Meyer et al., 2006) e reduzir os níveis de 8-hidróxi-2'-desoxiguanosina, um marcador de dano oxidativo ao DNA (Bender et al., 2008).

Tomados em conjunto, portanto, os dados sugerem que a atenuação do estresse oxidativo no TB pode consistir em relevante abordagem terapêutica, na qual a suplementação com creatina pode estar inserida.

1.4.4 Creatina como neuromodulador no TB

A creatina parece ser também ativa no receptor glutamatérgico do tipo NMDA. Ela tem sido implicada na modulação do potencial de ação neuronal (Royes et al., 2008) e em efeitos anti-imobilizadores no teste de suspensão caudal em modelos animais (Cunha et al., 2015). O sítio de ligação de poliamina no receptor NMDA parece ser um possível sítio de atividade (Oliveira et al., 2008). Isto levou à hipótese de que a creatina seja um neuromodulador, sendo que liberação de creatina já foi demonstrada após estimulação elétrica (Almeida et al., 2006); esta liberação foi bloqueada por

ausência de cálcio ou por tetrodotoxina, e aumentada pelo bloqueio de canais de potássio, o que é consistente com o comportamento de um neurotransmissor. Há também alguma evidência de que creatina seja protetora contra toxicidade por glutamato (um fenômeno consistentemente implicado na fisiopatologia do TB em diversas linhas de pesquisa), através de um mecanismo não relacionado à sua habilidade de inibir a ativação do MPTP (Klivenyi et al., 2004).

1.4.5 Outros possíveis mecanismos terapêuticos da creatina no TB

Outro possível mecanismo de ação terapêutico da creatina envolve sua relação com o metabolismo do carbono. A síntese de creatina *de novo* requer até 70% da SAME (S-adenosilmetionina) disponível, a qual consiste no doador universal de metila (Mudd; Poole, 1975; Wyss; Walliman, 1994; Stead et al., 2001; Brosnan et al., 2007). Consequentemente, menos SAME torna-se disponível para outras reações essenciais, como a metilação de neurotransmissores importantes para a regulação do humor e da cognição, incluindo dopamina e serotonina. A suplementação com creatina pode exercer efeitos antidepressivos reduzindo a necessidade de síntese *de novo* de creatina e aumentando a SAME disponível (Stead et al., 2001). Além disso, a suplementação com creatina diminui as concentrações de homocisteína (Lobley et al., 1996; Stead et al., 2001; Korzun, 2004; Deminice et al., 2008), cuja elevação dos níveis já foi associada a sintomas depressivos (Bjelland et al., 2003; Muntjewerff et al., 2006; Almeida et al., 2008).

1.4.6 Efeitos cognitivos da creatina e suas implicações no TB

O TB cursa com declínio progressivo na cognição e que está associado a neuroprogressão (Goodwin et al., 2008; Berk et al., 2011). Esta disfunção

cognitiva tem sido apontada como uma característica nuclear do TB e está presente tanto em estados sintomáticos quanto remitidos. Estudos meta-analíticos indicam que pacientes com TB apresentam prejuízos em testes de atenção, velocidade de processamento, memória explícita e diversos aspectos da função executiva (Quraishi; Frangou, 2002; Robinson et al., 2006; Torres et al., 2007; Arts et al., 2008; Bora et al., 2009).

Estudos que sugerem efeitos potencializadores da cognição da suplementação com creatina incentivam a pesquisa desta estratégia como terapia para os déficits cognitivos encontrados no TB.

Creatina (8 g/dia por 5 dias) foi ministrada a 24 jovens voluntários saudáveis em ensaio duplo-cego controlado com placebo (Watanabe et al., 2002) e o desempenho dos sujeitos foi verificado em tarefa de cálculos seriados, em que executaram cálculos matemáticos por 15 minutos, seguidos por 5 minutos de descanso, e então outros 15 minutos de cálculos. Os autores encontraram que o decréscimo no desempenho nos últimos 15 min foi menor no grupo suplementado com creatina, indicando minoração da fadiga mental.

Semelhantemente, 45 jovens adultos vegetarianos receberam 5g/dia de creatina durante 6 semanas num ensaio *crossover* duplo-cego controlado com placebo (Rae et al., 2003a), e foi testada sua habilidade no *backward digit span* (um teste de memória de trabalho) e nas Matrizes Progressivas Avançadas de Raven. Creatina melhorou os resultados em ambos os testes (nas Matrizes de Raven, o equivalente a 15 pontos de QI). Estes resultados podem refletir maior disponibilidade imediata de energia.

A melhora no desempenho no *backward digit span* foi confirmada em onívoros, juntamente com diminuição do efeito BOLD (*Blood Oxygen Level Dependent effect*) na ressonância magnética funcional (fMRI) após 1 semana de suplementação com creatina (20 g/dia por 5 dias seguido de 5 g/dia por 2 dias) (Hammett et al., 2010). Ao contrário, em estudo duplo-cego controlado com placebo (N=22, jovens saudáveis) em que se ministrou 2 g/dia de creatina por 6 semanas, não se verificaram alterações em

nenhum domínio cognitivo medido, incluindo memória e vigilância (Rawson et al., 2008).

A suplementação com creatina preveniu o declínio da atenção que ocorreu durante teste de privação aguda de oxigênio em estudo controlado com placebo com 15 voluntários (Turner et al., 2015).

É sabido que o *status* bioenergético prediz o desempenho cognitivo (Rae et al., 2003b) e que vegetarianos têm quantidades similares de creatina no cérebro que não-vegetarianos (Solis et al., 2014). Estudos em que o *status* bioenergético no *baseline* estava possivelmente comprometido incluem um estudo de 2006 (McMorris et al., 2006) que submeteu 19 sujeitos à privação de sono por 24 horas e aplicou testes cognitivos, de humor e de função motora com 6, 12 e 24 h de privação. Metade dos voluntários (N=10) havia recebido creatina (20 g/dia por 7 dias) e metade (N=9), placebo. Efeitos significativos da pré-suplementação com creatina foram vistos apenas após 24 horas e restritos a tempo de reação, percepção melhorada de fadiga e vigor e memória de trabalho.

1.5 Evidências genéticas e de expressão gênica também apontam para disfunção mitocondrial no TB

Diversos SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) mitocondriais associados ao TB parecem ter implicações funcionais. Pacientes com o polimorfismo 5178A>C tenderam a apresentar pH menor no lobo frontal quando investigados por MRS (Kato; Kato, 2000; Kato et al., 2000). O polimorfismo 3644T/>C no gene mt-ND1, que é associado com TB, causa diminuição no potencial da membrana mitocondrial e na atividade do complexo I (Munakata et al., 2004). O polimorfismo 10398A>G, associado ao TB, está relacionado a pH diminuído da matriz mitocondrial e a maiores níveis de Ca²⁺ nas mitocôndrias no *baseline* e após estimulação (Kato; Kato, 2000, Kato et al., 2003, Washizuka et al., 2003a; Kazuno et al., 2006;

Kazuno et al., 2008). Estes efeitos foram reduzidos por ácido valpróico (Kato et al., 2003; Kazuno et al., 2008).

Foram identificadas mutações em genes nucleares do complexo I associadas ao TB que podem contribuir para as reduções observadas na expressão do mRNA (RNA mensageiro) e de proteínas do complexo I (Washizuka et al., 2003b; Karry et al., 2004; Washizuka et al., 2005; Washizuka et al., 2006; Xu et al., 2008; Ben-Shachar; Karry, 2008; Washizuka et al., 2009; Andrezza et al., 2010).

Um estudo de expressão gênica no hipocampo de pacientes com TB (Konradi et al., 2004) observou que sujeitos com TB tinham expressão diminuída de mRNAs nucleares que codificavam para proteínas mitocondriais, caracterizando uma diminuição extensa e pronunciada na expressão de genes regulatórios da fosforilação oxidativa e do processo de degradação de proteossomo dependente de ATP.

Outro estudo também em hipocampo de portadores de TB mostrou suprarregulação na expressão de 19 entre 44 genes relacionados a apoptose, e infrarregulação importante na expressão de genes antioxidantes (Benes et al., 2006)

Uma infrarregulação de genes do ciclo de Krebs foi observada no córtex pré-frontal de indivíduos com TB (Middleton et al., 2002). Níveis reduzidos de mRNA de CK foram observados no hipocampo e cortex pré-frontal no TB (MacDonald et al., 2006).

Concluindo, diversos estudos genéticos e de expressão gênica corroboram a hipótese de disfunção mitocondrial no TB.

1.6 Efeitos dos estabilizadores do humor reforçam a hipótese de disfunção mitocondrial no TB

Alguns dados indicam que os estabilizadores do humor podem melhorar alguns sintomas do TB através de melhora na função mitocondrial.

O estabilizador do humor valproato de sódio é metabolizado na mitocôndria, e diversas drogas antipsicóticas ou seus metabólitos são capturados pelas mitocôndrias (Li et al., 1991; Inuwa et al., 2005). Em linhagem de células do neuroblastoma humano, doses terapêuticas de lítio e valproato aumentaram o consumo mitocondrial de oxigênio e o potencial de membrana mitocondrial, e normalizaram a atividade do complexo IV e a expressão de caspase após insulto provocado por metanfetamina (Bachmann et al., 2009). Lítio aumentou a atividade dos complexos I, II e III em homogenados de córtex pré-frontal humano, enquanto uma pequena redução foi observada na atividade do complexo IV em doses muito elevadas (Maurer et al., 2009). Lítio e valproato estabilizaram a dinâmica intracelular do cálcio (Wasserman et al., 2004; Shalbuyeva et al., 2007; Kazuno et al., 2008; Quiroz et al., 2010). Ambas as drogas também têm efeito antiapoptótico: elas inibem a liberação do citocromo c da mitocôndria e aumentam a expressão do gene antiapoptótico Bcl-2 (Chen; Chuang, 1999; Michaelis et al., 2006; Shalbuyeva et al., 2007; Bachmann et al., 2009). Em linhagens de células linfoblastóides, valproato aumentou a expressão da subunidade NDUFV2 do complexo I (Washizuka et al., 2009). Em linhagens de células de neuroblastoma humano, lítio atenuou as elevações na atividade da caspase-3 induzidas por rotenona e preveniu os estágios tardios da apoptose (King et al., 2001; Shalbuyeva et al., 2007). Células granulares do cerebelo exibiram expressão reduzida das proteínas pró-apoptóticas Bax e p53 após tratamento com lítio (Chen; Chuang, 1999), e valproato inibiu a apoptose em células endoteliais (Michaelis et al., 2006). Lítio e valproato também aumentaram a expressão de glutathione-S-transferase em culturas de neurônios (Wang et al., 2004; Bachmann et al., 2009).

Ratos tratados com doses terapêuticas de lítio e valproato tiveram níveis cerebrais aumentados de Bcl-2 (Manji et al., 2000). Bcl-2 e outros agentes neuroprotetores desta família exercem ação antiapoptótica e neuroprotetora, aumentando a capacidade da mitocôndria de resistir ao efeito tóxico de níveis elevados de Ca^{2+} intracelular e aumentando a estabilidade do MPTP (Murphy et al., 1996; Weeber et al., 2002).

Estes dados apresentados a respeito dos efeitos de estabilizadores do humor reconhecidamente eficazes no TB sobre a função mitocondrial reforçam a hipótese de disfunção mitocondrial nesta doença.

1.7 Farmacologia da creatina

Creatina (ácido metilguanidoacético) é um ácido orgânico encontrado naturalmente em tecidos animais. Descoberto em 1832 por Michel Chevreul e quimicamente identificado em 1847, o composto, isolado de tecido muscular, foi denominado “creatina” (do grego *kreas* = carne). Conta-se que o identificador da creatina e um dos pais da Bioquímica, Justus von Liebig, passou a fabricar e vender um *Fleischbrühe* (o “extrato de carne de Liebig”), que continha 8% de creatina, para financiar suas pesquisas (Wallimann, 2007).

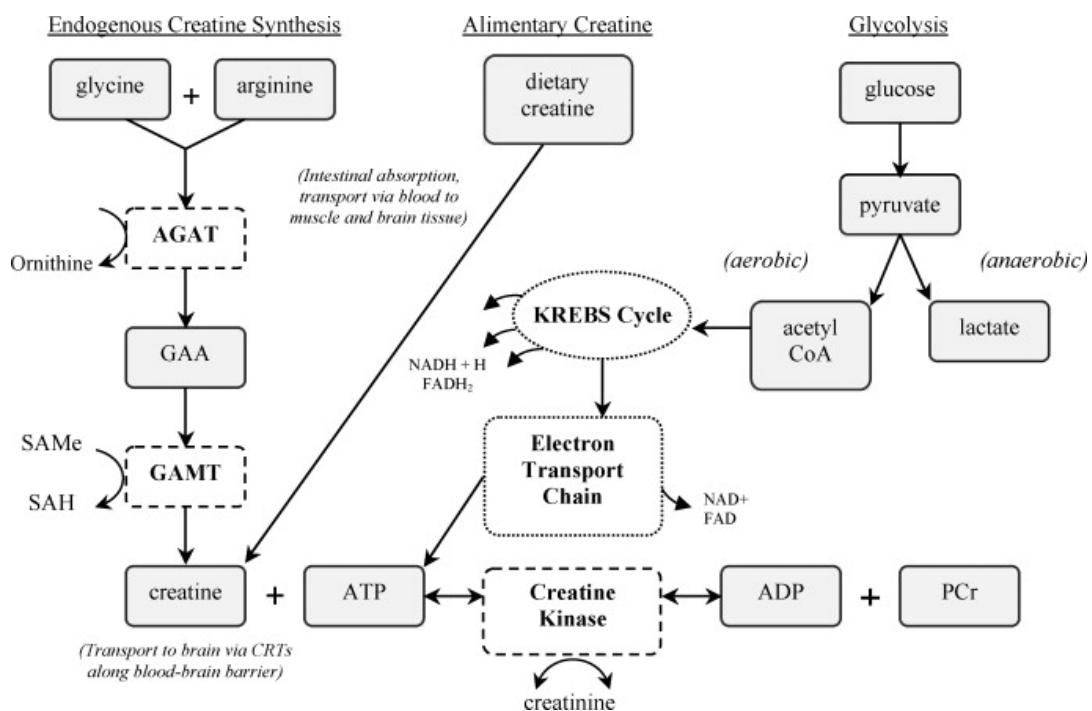
A creatina é um elemento dietético não-essencial encontrado principalmente na carne e peixes, e também é produzida endogenamente pelo fígado, rins e pâncreas na quantidade de cerca de 1 g por dia (Walker, 1979; Juhn; Tarnopolsky, 1998a; Wyss; Kaddurah-Daouk, 2000).

Variando de acordo com aspectos culturais e econômicos, o consumo atual diário de carne por pessoa varia de zero (vegetarianos) a aproximadamente 150 g (Suíça) ou 250-300 g (EUA, Austrália), o que corresponderia de zero a 0,75-1,5 g de creatina, portanto no limite inferior da necessidade alimentar diária de creatina (2-4 g/pessoa/dia). Estes números incluem não apenas carne fresca como também carne processada, a qual contém muito menos creatina, ou mesmo nada (Juhn; Tarnopolsky, 1998a; European Food Safety Authority web site: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620761727.htm).

O consumo dietético e a produção endógena de creatina se igualam à degradação espontânea de fosfocreatina (PCr) e creatina (Cr) em creatinina

numa taxa de 2,6% e 1,1% por dia, respectivamente. A reserva total de creatina em um humano de 70 kg situa-se em torno de 120 g (Walker, 1979).

A produção de Cr requer os aminoácidos arginina, glicina e metionina. Inicialmente, arginina e glicina são conjugadas, produzindo guanidinoacetato e ornitina numa reação catalisada pela arginina:glicina amidinotransferase (AGAT) (Walker, 1979; Wyss; Kaddurah-Daouk, 2000) (Figura 7). Acredita-se que o guanidinoacetato seja formado nos rins e transferido pelo sangue até o fígado (Wyss; Kaddurah-Daouk, 2000). No fígado, a S-adenosilmetionina doa um grupo metila para o guanidinoacetato através da S-adenosilmetionina:guanidinoacetato N-metiltransferase (GAMT) (Walker, 1979; Wyss; Kaddurah-Daouk, 2000). Deficiências destas enzimas provocam síndromes caracterizadas por atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (Stockler et al., 1994).



Fonte: Allen, 2012

Legenda: AGAT: arginina:glicina amidinotransferase; CRT: transportador de creatina; GAMT: guanidinoacetato metiltransferase; GAA: guanidinoacetato; SAME: S-adenosilmetionina; SAH: S-adenosil-homocisteína; acetyl-CoA: acetyl-coenzima A

Figura 7 - Vias do metabolismo da creatina e sua relação com o ATP

O monidrato de creatina está disponível como suplemento dietético há cerca de duas décadas na forma de um pó branco, solúvel e insípido (Graham; Hatton, 1999; Persky; Brazeau, 2001). Seu uso como ergogênico e seu estudo como possível tratamento para certas doenças neuromusculares são bem documentados na literatura científica (Buford et al., 2007; Kreider et al., 2010).

1.7.1 Absorção e distribuição

A creatina da dieta tem alta disponibilidade, uma vez que a absorção intestinal é próxima de 100% (Deldicque et al., 2008). Creatina entra na circulação sistêmica através de transportadores de aminoácidos e peptídeos e de transportadores dependentes de sódio (Orsenigo et al., 2005). Tem um peso molecular de 113, carga positiva no pH intestinal e coeficiente de partição de -1,8, o que lhe permite mover-se paracelularmente e também difundir-se através de membranas (Karlsson et al., 1999).

Harris et al. (1992) investigaram as concentrações sanguíneas ao longo do tempo após administração de monidrato de creatina em voluntários de 28-62 anos. Após uma dose única de 5g, Cr plasmática atingiu C_{max} média de aproximadamente 100mg l^{-1} no T_{max} de 1h. Em outro estudo em humanos (Green et al., 1996), após uma dose de 5 g, Cr plasmática atingiu C_{max} de 170mg l^{-1} num T_{max} de 50min. Schedel et al. (1999) administraram doses progressivas de Cr e mediram a concentração plasmática ao longo do tempo. Doses maiores levaram a tempos de absorção mais prolongados (uma dose de 20g demonstrou uma fase de absorção mesmo após 4h).

A maior parte (95%) da creatina distribuída pelo corpo é encontrada na musculatura esquelética. O restante é distribuído entre o cérebro, fígado, rins e testículos (Walker, 1979). Creatina é transportada contra um gradiente de concentração para tecidos com necessidades altas e flutuantes de energia (musculatura cardíaca e esquelética, cérebro e outros tecidos) por um transportador específico dependente de sódio denominado SLC6A8, que

já foi clonado e sequenciado (Speer et al., 2004; Straumann et al., 2006). A localização da expressão destes transportadores coincide com a expressão da creatina-quinase, a qual é encontrada em rins, coração, musculatura esquelética, cérebro, testículos e cólon, e ausente no fígado, pâncreas e intestino delgado (Guimbal; Kilimann, 1993; Nash et al., 1994; Sora et al., 1994). Não se verificou subregulação do transportador de Cr após 2 meses de suplementação em humanos na dose de 10 g/dia (Juhn; Tarnopolsky, 1998b). A suplementação com Cr parece não suprimir no longo prazo a síntese de Cr endógena (Febbraio et al., 1995; Hultman et al., 1996).

As concentrações de Cr no cérebro (6-12mM) são muito maiores que as no plasma (40 μ mol) (Tachikawa et al., 2012). O transportador SLC6A8 é expresso na face sanguínea e na face cerebral das células endoteliais da barreira hematoencefálica (Ohtsuki et al., 2002).

As células no cérebro também cooperam sintetizando creatina. Enquanto algumas células no cérebro possuem enzimas sintetizadoras e podem fabricar seu próprio suprimento de creatina, outras têm apenas AGAT e exportam guanidinoacetato, o qual é capturado via SLC6A8 por células com GAMT e utilizado para produzir creatina (Salomons et al., 2001; van de Kamp et al., 2012). GAMT está ausente em muitos neurônios (Tachikawa et al., 2004) e é expressa em níveis mais elevados em oligodendrócitos e astrócitos. Isto sugere que as células da glia podem servir como produtoras de creatina que será acumulada nos neurônios via SLC6A8. A maior porção de SLC6A8 cerebral é expressa em neurônios (Mak et al., 2009), enquanto parece estar ausente nos astrócitos (Lowe et al., 2015).

Vários estudos mostraram que o consumo oral de monoidrato de creatina pode aumentar as concentrações cerebrais de Cr e PCr em humanos (Dechent et al., 1999; Lyoo et al., 2003), sugerindo que a suplementação com monoidrato de creatina pode mitigar anormalidades bioenergéticas providenciando substrato adicional para a produção de ATP através da reação da creatina-quinase. Após 1 mês de suplementação na dose de 0,3 g/kg/dia, as concentrações cerebrais de Cr aumentaram em

cerca de 9% (Iyengar, 1984). A suplementação com 20g/dia por 4 semanas provocou aumento de 8,7% na Cr cerebral. Os maiores aumentos foram verificados em substância cinzenta (4,7%), substância branca (11,5%), cerebelo (5,4%) e tálamo (14,6%) (Dechent et al., 1999). A suplementação com 20 g/dia por 7 dias seguidos de 2 g/dia por 7 dias resultou em aumento de cerca de 8% (Lyo et al., 2003). Estudos que utilizaram suplementação por períodos menores de tempo ou doses menores que 5g não encontraram aumento da Cr (Rawson; Venezia, 2011).

1.7.2 Clearance

Creatina pode ser eliminada do sangue através de duas vias paralelas: a primeira é a captura para o interior de órgãos e tecidos; a segunda é a eliminação renal, pela qual a Cr é excretada em taxas equivalentes à da xilose, equivalendo portanto à taxa de filtração glomerular (Pitts, 1934).

1.7.3 Solubilidade

A solubilidade da creatina em água aumenta com a temperatura numa correlação quase linear. Um litro de água dissolve 6g de creatina a 4°C, 14 g a 20°C, 34 g a 50°C e 45 g a 60°C. A solubilidade da Cr também pode ser aumentada diminuindo-se o pH da solução. O monoidrato de creatina dissolve a 14 g/L a 20°C, resultando num pH neutro de 7 (Jäger et al., 2011).

1.7.4 Estabilidade na forma sólida

O pó de monodrato de creatina é bastante estável, não demonstrando sinais de degradação ao longo de anos, mesmo sob temperaturas elevadas. Para detectar-se o potencial de degradação da creatina, deve-se medir o conteúdo de seu produto de degradação, creatinina, o qual pode ser quantificado até um limite mínimo de detecção de 67 partes por milhão (ppm). Em temperatura ambiente e mesmo sob temperatura de 40 °C, o monodrato de creatina não mostrou sinais de degradação depois de mais de 3 anos. Mesmo quando armazenado a 60 °C, creatinina só foi detectada após 44 meses (Jäger, 2003).

1.7.5 Estabilidade em solução

A taxa de degradação de creatina em solução não depende da concentração, mas do pH. Quanto menor o pH e maior a temperatura, mais rápida é a degradação. Enquanto Cr é relativamente estável em solução em pH neutro, a diminuição do pH aumenta sua degradação. Mesmo assim, apenas após 3 dias de armazenamento a degradação foi significativa: 4% a pH 5,5; 12% a pH 4,5 e 21% a pH 3,5 (Edgar; Shiver, 1925; Cannon et al., 1990; Howard; Harris, 1999).

1.7.6 Segurança

Como a creatina é sintetizada endogenamente e consumida na dieta, não surpreendente que tenha havido poucos efeitos colaterais relatados em diversos estudos de suplementação com voluntários saudáveis (Harris et al., 1992; Greenhaff et al., 1993; Greenhaff et al., 1994; Hultman et al., 1996; Vandenbergue et al., 1997; Vandenbergue et al., 1999) e pacientes (Sipila et

al., 1981; Gordon et al., 1995; Tarnopolsky et al., 1997; Tarnopolsky; Martin, 1999; Mihic et al., 2000).

Possíveis efeitos colaterais da suplementação com creatina foram revisados por Juhn e Tarnopolsky (1998b). O ganho de peso típico situa-se entre 1 a 2 kg e se deve inicialmente a retenção de água. Sintomas gastrointestinais (náusea, vômito, diarreia) já foram relatados de forma anedótica, mas não têm sido documentados em estudos. Eles podem ter ocorrido devido ingestão de doses muito elevadas ou da ingestão subsequente de grandes quantidades de carboidrato, algo comum entre atletas. Caimbras musculares foram relatadas anedoticamente, mas também não foram encontradas nos estudos. Um estudo duplo-cego, *crossover*, em que voluntários receberam suplementação com creatina na dose de 20g/dia por 5 dias com um *washout* de 28 dias entre os tratamentos (Kamber et al., 1999) não mostrou alterações nas enzimas hepáticas. A pressão arterial também parece não ser afetada (Mihic et al., 2000).

Uma preocupação frequentemente expressa com a suplementação com creatina faz referência a um possível efeito deletério para a função renal. Esta preocupação pode ter a ver com o fato de que creatina é ainda confundida com o seu produto de degradação não-enzimática, creatinina. Creatinina é medida no soro como um marcador da função renal devido sua abundância e facilidade de se medir quimicamente. Embora o acúmulo de creatinina no soro normalmente indique prejuízo da função renal, isto não tem nenhuma relação com o ligeiro aumento das concentrações de creatinina que podem ocorrer durante a suplementação com creatina (Schedel et al., 1999). Creatina-quinase (CK) e creatina (Cr) são importantes para a função renal. Creatina-quinase é altamente expressa em células epiteliais renais (Wallimann; Hemmer, 1994) e o sistema CK/PCr dá suporte à função das bombas Na^+/K^+ -ATPase nos rins (Guerrero et al., 1997). Além disso, células epiteliais dos túbulos proximais expressam um transportador de creatina que a reabsorve da urina (Wyss; Kaddurah-Daouk, 2000; Li et al., 2010).

Alguns estudos com suplementação de creatina ainda assim investigaram marcadores de função renal. Em um estudo duplo-cego controlado com placebo, homens saudáveis receberam 10 g/dia por 3 meses e não exibiram efeitos deletérios na função renal (Gualano et al., 2008b). Também não foram observadas alterações na função renal em 9 sujeitos que tomaram entre 2 a 30 g por dia de creatina durante um período de 10 meses a 5 anos (Poortmans; Francaux, 1999).

Em um relato de caso de um homem com apenas um rim e que já apresentava taxa de filtração glomerular levemente diminuída, não houve efeitos deletérios da suplementação com 20 g de creatina por dia durante 30 dias (Gualano et al., 2010). Suplementação de Cr com 4 g/dia por 2 anos não alterou a função renal em pacientes com doença de Parkinson (Bender et al., 2008b), e 20 g/dia por 5 dias não alterou a taxa de filtração glomerular e a excreção de albumina ou de proteína total (Poortmans et al., 1997).

Em dois casos isolados, um paciente apresentou nefrite intersticial que melhorou após o término do uso de Cr (Koshy et al., 1999), e outro paciente com glomeruloesclerose focal teve redução na taxa de filtração glomerular que retornou ao normal após o término da suplementação com creatina (Pritchard; Kalra, 1998). Antes do diagnóstico de glomeruloesclerose focal, o paciente havia apresentado síndromes nefróticas recorrentes que responderam a esteróide, e estava em uso de ciclosporina.

1.8 Status regulatório da creatina no Brasil

No Brasil, nutrientes não-essenciais, como a creatina, são classificados como **substância bioativa** ou **novo ingrediente dietético** e devem receber aprovação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) antes de entrarem no mercado (Lajolo; Miyazaki, 2007). A aprovação é baseada numa ampla revisão da segurança e eficácia do ingrediente e estabelece requerimentos específicos para dosagem e graus de pureza. A ANVISA aprovou em 2010 o uso de monidrato de creatina como suplemento

nutricional para atletas (Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010).

1.9 Creatina em modelos animais

Numerosos estudos em modelos animais de doença neurodegenerativa demonstraram efeitos benéficos da administração de creatina (Matthews et al., 1998; Klivenyi et al., 1999; Matthews et al., 1999; Ferrante et al., 2000; Malcon et al., 2000; Andreassen et al., 2001; Dedeoglu et al., 2003; Klivenyi et al., 2004; Zhu et al., 2004). Creatina mostrou-se neuroprotetora em modelos animais de inibição do complexo I e II (Matthews et al., 1999; Klivenyi et al., 2004). Também protegeu contra perda neuronal em um modelo de trauma encefálico, no qual esteve associada a atenuação da apoptose, prevenção da abertura do MPTP e manutenção do potencial da membrana mitocondrial (Sullivan et al., 2000; Lawler et al., 2002).

Evidências pré-clínicas a partir de um modelo animal de depressão apontaram para potenciais efeitos antidepressivos da creatina (Allen et al., 2010; Allen et al., 2012). Esta resposta antidepressiva induzida por suplementação com Cr foi observada em roedores fêmeas, não em machos. O dimorfismo sexual na expressão da CK (Gledhill et al., 1988) e os efeitos benéficos do estrógeno na função mitocondrial (Stirone et al., 2005; Razmara et al., 2007) - por exemplo, aumentando a produção de energia e diminuindo a geração de radicais livres de oxigênio - poderiam explicar esta diferença entre os sexos. Além disso, anormalidades no metabolismo cerebral associadas a depressão têm sido mais comumente reportadas em mulheres que em homens (Renshaw et al., 2001).

1.10 Estudos clínicos com creatina em doenças mitocondriais e neurológicas

Diversos ensaios clínicos com monidrato de creatina no tratamento de citopatias mitocondriais (Tarnopolsky et al., 1997), doenças neuromusculares (Walter et al., 2000; Tarnopolsky et al., 2004) e doenças neurodegenerativas como a doença de Parkinson (Bender et al., 2006; NINDS NET-PD Investigators, 2006), doença de Huntington (Verbessem et al., 2003; Tabrizi et al., 2005) e esclerose lateral amiotrófica (Groeneveld et al., 2003; Rosenfeld et al., 2008) foram realizados, com resultados mistos.

1.11 Estudos clínicos com creatina em Psiquiatria

A suplementação com monidrato de creatina (5 g/dia) por 4 semanas demonstrou benefícios em um pequeno estudo aberto (N=10) com pacientes com transtorno de estresse pós-traumático que já vinham em uso de antidepressivo por pelo menos 6 semanas (Amital et al., 2006a). Suplementação com creatina também esteve associada com melhora de sintomas depressivos em um paciente com fibromialgia e depressão comórbida (Amital et al., 2006b).

Em um estudo randomizado duplo-cego ministrou-se 5 g/dia de creatina ou placebo para 12 pacientes com esquizofrenia por 3 meses e não se encontrou melhora significativa em medidas clínicas ou neuropsicológicas no grupo que recebeu creatina (Kapsan, 2007).

Oito pacientes unipolares e dois pacientes com TB em episódio depressivo resistente a tratamento receberam por 4 semanas 3-5 g/dia de monidrato de creatina adjuvante em um estudo aberto. As medidas de desfecho avaliadas foram a Escala de Depressão de Hamilton – versão de 17 itens (HAMD-17), a Escala de Ansiedade de Hamilton e a CGI (*Clinical Global Impression*) aplicadas no *baseline* e semanalmente. Um paciente melhorou significativamente depois de uma semana e abandonou o estudo.

Os dois pacientes com TBH desenvolveram hipomania. Para todos os 7 pacientes restantes, as pontuações em todas as escalas melhoraram significativamente. Os efeitos adversos foram leves e transitórios (Roitman, 2007). O fato de que os dois sujeitos com TB neste estudo desenvolveram hipomania suscita a discussão a respeito do risco de a suplementação com creatina induzir virada maníaca, a que deve acrescentar-se os dados de outro ensaio que examinou a efetividade da suplementação com creatina no treinamento de alta resistência (Volek et al., 2000). Neste último, dois sujeitos relataram estarem sentindo-se mais agressivos e nervosos após uma semana de suplementação (25 g/dia).

Cinquenta e duas mulheres com Transtorno Depressivo Unipolar em episódio depressivo foram incluídas em um ensaio clínico duplo-cego controlado com placebo de 8 semanas e receberam randomicamente creatina (5 g/dia, N=25) ou placebo (N=27) em adição ao escitalopram (Lyoo et al., 2012). Em comparação ao grupo que recebeu placebo, as pacientes que receberam potencialização com creatina exibiram melhora na pontuação na HAMD a partir da segunda semana de tratamento. Esta melhora foi mantida nas semanas 4 e 8 e a taxa de remissão após 8 semanas foi duas vezes maior no grupo creatina (52%) que no grupo placebo (26%). Não houve diferenças entre os grupos na proporção de pacientes que descontinuaram o tratamento prematuramente ou na frequência geral de todos os efeitos adversos relatados. Uma sub-amostra de 34 sujeitos que participaram deste ensaio clínico participou de avaliações multimodais de neuroimagem (espectroscopia de ressonância magnética de próton e diffusion tensor imagem por tensão de difusor). Encontrou-se que os níveis pré-frontais de NAA e as conexões aumentaram significativamente no grupo que recebeu suplementação com creatina quando comparado ao grupo que recebeu placebo (Yoon et al., 2015).

2 Justificativa

2 JUSTIFICATIVA

Tomando-se em consideração que cerca de metade dos pacientes não respondem adequadamente aos tratamentos disponíveis para depressão bipolar, existe uma clara necessidade de novas terapias, eficazes e toleráveis, para esta condição.

3 Objetivos

3 OBJETIVOS

O objetivo principal deste estudo foi verificar se o monidrato de creatina melhora os sintomas depressivos, quando usado durante 6 semanas no tratamento adjuvante aos estabilizadores de humor na depressão bipolar.

Um objetivo secundário deste estudo foi verificar se a adição de monidrato de creatina por 6 semanas melhora as funções cognitivas em sujeitos com TB em episódio depressivo.

4 Hipóteses

4 HIPÓTESES

- 1) Haverá uma maior redução na média das pontuações de sintomas depressivos após 6 semanas no grupo que recebeu creatina quando comparada com o grupo placebo.
- 2) Uma proporção maior de sujeitos responderá ao tratamento adjuvante de 6 semanas com creatina quando comparada com a do grupo que recebeu placebo.
- 3) A adição de creatina será segura e bem tolerada.
- 4) Haverá melhora no desempenho cognitivo do grupo que recebeu creatina por 6 semanas, quando comparado com o grupo placebo.

5 Casuística e Métodos

5 CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1 Considerações éticas

Este projeto recebeu aprovação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq – Hospital das Clínicas da FMUSP (parecer número 399.203 de 18/09/2013; CAAE: 02297613.8.0000.0068) e foi registrado na base de dados pública *clinicaltrials.gov* (NCT 01655030) antes de iniciar a inclusão de sujeitos.

O estudo foi contemplado com o *2013 NARSAD Independent Investigator Grant* concedido pela *Brain & Behavior Research Foundation* no valor de US\$ 97,900.00.

Todos os voluntários para o estudo assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pela CAPPesq – HCFMUSP após leitura e explanação de seu conteúdo previamente à inclusão do sujeito na pesquisa.

5.2 Divulgação

O estudo foi divulgado ao público através de diversas mídias: vídeo exibido em linhas do Metrô e da CPTM da cidade de São Paulo, cartazes expostos nos diversos institutos do Complexo HC-FMUSP e redes sociais (por exemplo, Facebook do IPq – HCFMUSP, contando com apoio da assessoria de imprensa desta instituição).

5.3 Estrutura para execução do projeto

A execução do projeto contou com o envolvimento de profissionais com diversas áreas de formação que fazem parte da equipe do Programa de

Transtorno Bipolar – PROMAN – IPq-HCFMUSP, sob a coordenação do Prof. Dr. Beny Lafer: uma administradora, uma enfermeira/assistente de pesquisa, uma enfermeira para o ambulatório, um médico (o pesquisador executante), uma neuropsicóloga e um esteticista.

Os atendimentos médicos, as avaliações neuropsicológicas e as coletas de sangue foram realizados nas dependências dos ambulatórios do Instituto de Psiquiatria – IPq-HCFMUSP e as análises laboratoriais foram executadas no Laboratório Central do HC-FMUSP.

5.4 Desenho do estudo

5.4.1 Critérios de inclusão

Foram considerados elegíveis para o estudo adultos de 18 a 60 anos de idade que preencheram critérios do DSM-IV avaliados através do SCID/P (*Structural Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders – Patient version*) para transtorno bipolar do tipo I ou II, e que se encontravam em episódio depressivo, e cuja pontuação na MADRS - *Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale* (Montgomery; Åsberg, 1979) era maior ou igual a 20.

5.4.2 Critérios de exclusão

Consistiram em critérios de exclusão: abuso de substância(s) nas últimas 2 semanas anteriores ou dependência de substância(s) nos 2 meses prévios, demência, *delirium*, epilepsia, retardo mental, doenças médicas clinicamente instáveis e história de hipersensibilidade a creatina. Não foram inclusos indivíduos julgados clinicamente como de alto risco para comportamentos suicidas, homicidas ou automutilatórios. Mulheres

potencialmente férteis foram incluídas apenas se estavam em uso de método contraceptivo confiável.

5.4.3 Triagem primária

Os voluntários que fizeram contato por telefone ou por email com o PROMAN receberam da assistente de pesquisa informações iniciais a respeito do estudo e responderam, por telefone ou por email, a questionário para rastreamento dos principais critérios de inclusão e exclusão da pesquisa. As respostas foram revisadas pelo médico pesquisador executante, que decidia então convocar ou não o voluntário para triagem médica.

Médicos psiquiatras que atendem no ambulatório do PROMAN – IPq-HCFMUSP também indicaram voluntários ao estudo que já seguiam tratamento neste serviço. Estes voluntários também passaram pela triagem secundária com o pesquisador-executante.

Os sujeitos que estavam em uso de antipsicóticos ou estabilizadores do humor puderam ser incluídos se as dosagens dos mesmos estavam estáveis há pelo menos 2 semanas. Os sujeitos que estavam em uso de antidepressivos puderam ser incluídos se as dosagens dos mesmos estavam estáveis há pelo menos 4 semanas na ausência de resposta antidepressiva significativa.

5.4.4 Triagem médica

Após a triagem primária, os voluntários convidados para triagem médica compareceram a avaliação pelo médico pesquisador-executante realizada nas dependências ambulatoriais do IPq-HCFMUSP. Os voluntários foram instruídos a comparecerem nesta triagem acompanhados por algum familiar e, quando disponíveis, seus prontuários médicos foram analisados,

em particular os daqueles que seguiam ou já haviam seguido tratamento ambulatorial no IPq-HCFMUSP.

Sujeitos que não foram incluídos no estudo após a triagem médica foram encaminhados para seguimento do tratamento no serviço de origem ou atendidos após a triagem pelo Serviço Social do IPq-FMUSP para receberem orientação e encaminhamento a serviço de referência na rede pública. O médico pesquisador-executante forneceu a cada voluntário um relatório a respeito da avaliação e conduziu tratamento inicial, inclusive com retornos ao ambulatório, sempre que condições clínicas graves assim o recomendaram, encaminhando o paciente apenas após melhora e estabilização do quadro.

5.4.5 O ensaio clínico

Os voluntários que preencheram os critérios para inclusão no estudo e assinaram o TCLE prosseguiram a uma entrevista conduzida pelo médico pesquisador-executante com a *Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders* (SCID). Ao final da entrevista, confirmando-se os critérios de inclusão, era agendada a visita 0 dentro de poucos dias. A alocação do sujeito em um dos grupos do estudo foi feita apenas no dia da visita 0 e após reavaliação pelo médico pesquisador-executante, a fim de checar se o paciente ainda preenchia os critérios de inclusão.

Os sujeitos incluídos no ensaio clínico foram randomicamente alocados para receberem suplementação com monidrato de creatina (grupo creatina) ou placebo (grupo placebo). O plano de randomização em blocos de 4 foi gerado pela farmacêutica coordenadora da Divisão de Farmácia do Instituto Central – HCFMUSP através de plataforma disponível na web (www.graphpad.com). Esta farmacêutica não esteve envolvida em nenhuma outra fase da pesquisa. A enfermeira assistente de pesquisa, a enfermeira do ambulatório, o médico pesquisador-executante, a neuropsicóloga e os

sujeitos da pesquisa estiveram todos cegos à alocação nos grupos ao longo do estudo.

Em cada visita, o sujeito recebeu da enfermeira assistente de pesquisa um pacote contendo 14 sachês laminados e selados contendo 6 gramas de monoidrato de creatina em pó solúvel (grupo creatina) ou 6 gramas de amido de milho (grupo placebo), com a prescrição de ingerirem o conteúdo de um sachê por dia diluído na bebida que preferissem durante o almoço. O monoidrato de creatina solúvel consiste em um pó branco, insípido e inodoro. Neste ensaio clínico, utilizou-se monoidrato de creatina da marca Creapure® (AlzhChem Troserg GmbH Germany; U.S. Patent # 5,719,319), cujo alto padrão de qualidade é internacionalmente reconhecido.

Durante as 6 semanas do ensaio, os sujeitos permaneceram em uso do mesmo esquema medicamentoso vigente por ocasião da inclusão no estudo, tendo sido permitidas excepcionalmente algumas alterações devido a presença de insônia.

A visita inicial (*baseline*) incluiu a realização de anamnese clínica e psiquiátrica padronizadas pelo Programa de Transtorno Bipolar – PROMAN – IPq-HCFMUSP, exame físico (incluindo peso, altura e medida da pressão arterial), aplicação das entrevistas e escalas psiquiátricas pelo médico pesquisador-executante (SCID/P, MADRS, HAMD-17, YMRS, CGI-S, FAST), avaliação neuropsicológica e coleta de sangue para exames laboratoriais (hemograma, sódio, potássio, uréia, creatinina, glicemia, colesterol total e frações, triglicérides, TGO, TGP, TSH, T₄ livre, concentrações séricas de lítio e/ou de ácido valpróico se pertinentes). As coletas de sangue foram feitas entre as 8h00 e 10h00 pela enfermeira assistente de pesquisa, com os voluntários estando em jejum de aproximadamente 12 horas.

A segunda visita, a que denominamos visita 2, realizada após 14 dias, incluiu avaliação psiquiátrica e aplicação das escalas MADRS, HAMD-17, YMRS, CGI-S, CGI-I e do questionário de eventos adversos pelo médico pesquisador-executante.

A terceira visita, a que denominamos visita 4, realizada após 28 dias da visita 0, incluiu avaliação psiquiátrica e aplicação das escalas MADRS, HAMD-17, YMRS, CGI-S, CGI-I e do questionário de eventos adversos pelo médico pesquisador-executante.

A quarta e última visita, a que denominamos visita 6, realizada após 42 dias da visita 0, incluiu a realização de avaliação psiquiátrica, exame físico (incluindo peso e medida de pressão arterial), aplicação das escalas psiquiátricas (MADRS, HAMD-17, YMRS, CGI-S, CGI-I, FAST) e do questionário de eventos adversos pelo médico pesquisador-executante, avaliação neuropsicológica e coleta de sangue para exames laboratoriais (hemograma, sódio, potássio, uréia, creatinina, glicemia, colesterol total e frações, triglicérides, TGO, TGP, TSH, T₄ livre, concentrações séricas de lítio e/ou de ácido valpróico se pertinentes). A coletas de sangue foram feitas nas mesmas condições descritas para a visita de *baseline* (Tabela 2).

Nas visitas 2, 4 e 6 os sachês não consumidos nos últimos 14 dias foram devolvidos ao médico pesquisador-executante e contabilizados ao término das 6 semanas do ensaio como medida de adesão ao protocolo. Foram considerados aderentes os sujeitos com consumo de pelo menos 11 sachês dos 14 distribuídos a cada visita.

Os exames laboratoriais foram analisados no Laboratório Central do HC-FMUSP.

Os sujeitos foram excluídos do estudo se apresentaram adesão insatisfatória ao protocolo da pesquisa (inclusive se fizeram modificações não autorizadas no regime medicamentoso), efeito adverso intolerável, virada para episódio hipomaníaco/maníaco ou piora da depressão com risco de suicídio.

Os voluntários da pesquisa dispuseram durante todo o período do ensaio clínico de fácil acesso à enfermeira assistente de pesquisa e puderam receber pronta reavaliação pelo médico pesquisador-executante em caso de necessidade clínica.

Ao término das 6 semanas do ensaio clínico ou após a exclusão do estudo, todos os voluntários que assim o desejaram continuaram a ser atendidos em tratamento usual pelos médicos do ambulatório do Programa de Transtorno Bipolar – PROMAN – IPq-HCFMUSP.

Tabela 2 - Procedimentos realizados em cada visita

	<i>Baseline</i>	Visita 2	Visita 4	Visita 6
MADRS	X	X	X	X
HAMD	X	X	X	X
YMRS	X	X	X	X
CGI-S	X	X	X	X
CGI-I		X	X	X
FAST	X			X
labs	X			X
neuropsi	X			X

5.4.6 Instrumentos de avaliação psiquiátrica

Os seguintes instrumentos de avaliação psiquiátrica foram utilizados neste estudo:

SCID-IP (Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders – Patient version); traduzida para o português por Marcelo Tavares. Trata-se de entrevista estruturada para diagnósticos psiquiátricos do eixo-I segundo critérios do DSM-IV (APA, 1994). A entrevista original foi validada e submetida a inúmeros estudos de confiabilidade. Porém, a versão traduzida para o português não foi totalmente validada até este momento.

MADRS - A MADRS (*Montgomery-Asberg Depression Rating Scale*) (Montgomery; Asberg, 1979), juntamente com a HAMD, é a escala mais frequentemente utilizada para monitorar resposta a tratamento para depressão em ensaios clínicos. Ela consiste de 10 itens (cada um com pontuação de 0 a 6) e é aplicada pelo avaliador, podendo-se referir a qualquer intervalo de tempo entre as avaliações. No presente estudo, referiu-se à última semana.

HAMD-17 - A HAMD-17 (*Hamilton Depression Rating Scale*) (Hamilton, 1960) é composta de 17 itens (cada um com pontuação de 0 a 2 ou 0 a 4) e aplicada pelo avaliador. Como foi desenvolvida originalmente para pacientes deprimidos internados, ela enfatiza sintomas melancólicos e físicos de depressão. No presente estudo, referiu-se aos sintomas apresentados na última semana.

YMRS - A YMRS (*Young Mania Rating Scale*) (Young et al., 1978) é uma escala de 11 itens aplicada pelo entrevistador que avalia a gravidade de sintomas maníacos. Contém 4 itens pontuados de 0 a 8 e 7 pontuados de 0 a 4. No presente estudo, referiu-se aos sintomas apresentados na última semana.

CGI - A escala CGI (*Clinical Global Impression*) consiste em 3 itens que podem ser pontuados de 0 a 7. É aplicada pelo entrevistador e mede a gravidade da doença (CGI-S) ou a mudança global com o tratamento (CGI-I), de acordo com a experiência do avaliador com pacientes com o mesmo diagnóstico (Guy, 1976).

FAST - A FAST (*Functioning Assessment Short Test*) (Rosa et al., 2007), é uma entrevista de 24 itens construída pelo Programa de Transtorno Bipolar em Barcelona e validada em amostra brasileira de pacientes com TB (Cacilhas et al., 2009) que avalia prejuízo funcional em doentes mentais, focalizando nos principais problemas experimentados pelos mesmos. Ela é aplicada pelo avaliador e abrange 6 domínios: autonomia, funcionamento ocupacional, funcionamento cognitivo, finanças, relacionamentos

interpessoais e lazer. As pontuações são determinadas pela soma dos itens, que vão de 0 (nenhum problema) a 3 (limitação grave) nos 15 dias antecedentes à avaliação.

5.4.7 Instrumentos de avaliação neuropsicológica

Os seguintes instrumentos de avaliação neuropsicológica foram utilizados neste estudo:

Escala Wechsler de Inteligência Abreviada (WASI) (Wechsler, 1999) – Estimamos o nível intelectual (QI) dos sujeitos da pesquisa a partir dos resultados dos subtestes Vocabulário e Raciocínio Matricial da Escala Wechsler de Inteligência Abreviada (WASI) (Wechsler, 1999).

O subteste de Vocabulário é composto por 42 palavras com níveis crescentes de complexidade cujo significado o sujeito precisa dizer.

O subteste de Raciocínio Matricial é constituído por 26 figuras apresentadas de forma incompleta para as quais o sujeito deve escolher uma de cinco alternativas a fim de completar uma sequência lógica.

Wisconsin Card Sorting Test (WCST) (Heaton, 1981): Esta tarefa avalia a capacidade de formar conceitos e o nível de flexibilidade mental.

O teste WCST contém 48 cartões impressos com uma ou até quatro figuras (triângulos, estrelas, cruzes ou círculos) em vermelho, verde, amarelo ou azul. Não existem dois cartões iguais. Os cartões são numerados no verso para que sejam entregues aos examinados sempre na mesma ordem. O examinado é apresentado a quatro cartões (estímulo) que ficam em cima da mesa, em frente ao examinado. Em seguida é instruído a combinar consecutivamente cada um dos cartões-respostas (que o examinado vai pegando de uma pilha ao seu lado) com um dos quatro cartões-estímulos na mesa. Após cada combinação o examinador diz se esta está "correta" ou "incorreta" sem que nunca lhe seja dito qual o critério que rege as

combinações. Quando o examinando consegue combinar corretamente seis cartões-respostas consecutivos, o examinador avisa que o critério de combinação deve ser mudado e novamente o examinado tem de descobrir o novo critério de combinação. O teste termina quando o examinando completa seis conjuntos de seis respostas corretas consecutivas ou quando os cartões-respostas acabam. Os critérios de combinação da primeira rodada podem seguir qualquer ordem que o examinando escolha e assim acontece até que sejam contempladas as três categorias possíveis (cor, forma e número). Então, o examinando deve novamente realizar as mesmas categorias na ordem que ele escolheu previamente até completar mais uma rodada de critérios, sempre nesta mesma ordem.

Dígitos – WAIS-III (Wechsler, 1999) – Avalia atenção, controle mental e memória operativa através de repetições numéricas na ordem direta e inversa. Na ordem direta, o examinador lê em voz alta uma sequência de números e o examinando precisa repetí-la. As sequências iniciam com dois dígitos e podem chegar até oito dígitos. Na ordem inversa, o examinador lê em voz alta uma sequência de números e o examinando precisa repetí-la de trás para frente.

Stroop (Spreen; Strauss, 1998a) – Avalia atenção seletiva e controle inibitório.

É composto por 3 cartões. No cartão 1, o sujeito deve nomear o mais rápido possível a cor de 24 retângulos impressos em verde, rosa, azul ou marrom. O cartão 2 é similar ao 1, porém os retângulos são substituídos por palavras usando as mesmas cores do primeiro cartão. No cartão 3 os estímulos coloridos são os nomes das cores impressas de modo que a cor impressa nunca corresponda ao nome da cor. Nos cartões 2 e 3 o indivíduo deve suprimir uma resposta habitual (leitura) em favor de uma não usual.

Figura de Rey (Rey, 1999) - Avalia percepção visual, memória imediata e memória tardia. O teste é composto por uma figura geométrica complexa e abstrata. A aplicação do teste apresenta duas partes.

Inicialmente solicita-se que o paciente reproduza a cópia da figura em uma folha branca na posição horizontal. Alguns autores preferem que o examinando utilize alternadamente lápis coloridos durante a cópia e que o examinador solicite a troca de lápis de acordo com a sequência dos elementos copiados. O objetivo dessa troca de lápis é avaliar o desenvolvimento da estratégia de cópia do examinando. Esta técnica foi utilizada pela neuropsicóloga no presente estudo. Em seguida, o paciente terá que reproduzir de memória a figura copiada. O intervalo entre essas duas partes do processo de aplicação varia de acordo com o interesse de investigação do aplicador, porém não deve exceder 3 minutos (Rey, 1999). Na presente pesquisa, o intervalo utilizado foi de 30 segundos.

Teste de Fluência Verbal (Spreen; Strauss, 1998b) - Avalia o número de palavras produzidas espontaneamente, de forma oral, em um determinado período de tempo (1 minuto) e dentro de uma categoria fonológica limitada.

5.4.8 Outros instrumentos de avaliação

Questionário de eventos adversos - Um questionário para o relato de eventos adversos foi elaborado e aplicado pelo médico pesquisador-executante a cada visita. Ele incluía os efeitos adversos mais comumente relatados nos ensaios clínicos de suplementação com creatina publicados na literatura. Seus itens consistiam em: coceira/prurido, câimbras, cefaléia, constipação, diarréia, inchaço em membros inferiores, náusea, vômito, refluxo, sonolência, tontura/vertigem, astenia e dor abdominal. Os sintomas eram assinalados pelo médico pesquisador-executante conforme relatados pelo paciente como tendo começado após o início do tratamento adjuvante em estudo. Eventos adversos verificados pelo médico pesquisador-executante ou espontaneamente relatados pelos sujeitos e que não constavam no questionário também foram anotados.

5.4.9 Medidas de desfecho

A medida de desfecho primário consistiu na mudança percentual da pontuação na MADRS na visita 6 em comparação ao *baseline*.

As medidas de desfecho secundárias consistiram nas mudanças das pontuações na MADRS, HAMD-17, CGI-S e FAST e de cada um dos testes neuropsicológicos na visita 6, comparadas ao *baseline*.

As taxas de resposta sintomática e de remissão após 6 semanas também foram consideradas como medidas de desfecho secundárias. Estipulamos duas faixas de resposta: redução maior ou igual a 50% e redução de pelo menos 25% da pontuação na MADRS em comparação ao *baseline*. Consideramos remissão como pontuação na MADRS ≤ 7 , em concordância com os critérios amplamente utilizados na literatura.

5.5 Análise estatística

Os pressupostos de normalidade foram verificados através do teste de Kolmogorov-Smirnov. A seguir, o teste do qui-quadrado para variáveis categóricas ou o teste t de Student para variáveis contínuas foram usados para comparar os grupos creatina e placebo com respeito às variáveis sócio-demográficas no *baseline*.

Para a comparação das diferenças entre os grupos nas medidas de desfecho após as 6 semanas utilizamos testes t de Student. Inicialmente realizamos análise por intenção-de-tratar com a técnica LOCF (*last-observation-carried-forward*), considerando apenas os pacientes que receberam pelo menos uma reavaliação (visita 2). Posteriormente, procedemos a uma análise secundária considerando apenas os sujeitos que completaram as 6 semanas do ensaio clínico (análise *per-protocol* ou dos *completers*).

Para comparação entre os grupos de tratamento da alteração dos resultados nos testes neuropsicológicos entre a semana 6 e o *baseline*, utilizamos o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Neste estudo consideramos como significativo um nível de significância menor que 0,05.

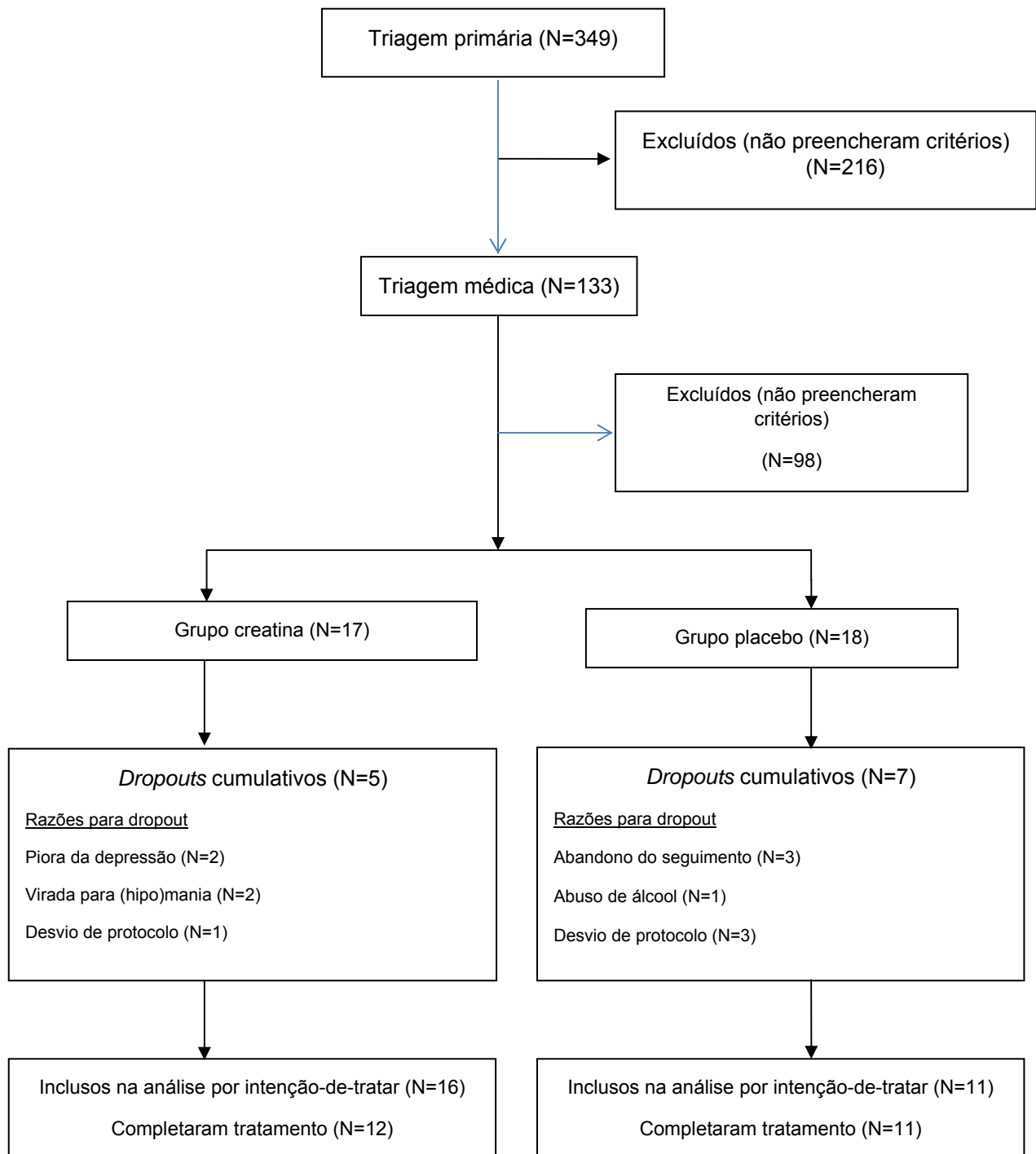
Os dados foram analisados com o programa IBM SPSS Statistics, versão 23.0.

6 Resultados

6 RESULTADOS

6.1 Caracterização da amostra

Dos 35 sujeitos incluídos no ensaio clínico, 17 (48,6%) foram randomicamente alocados para receberem monidrato de creatina e 18 (51,4%) para receberem placebo (Figura 8).



Adaptado do modelo CONSORT (Schulz et al., 2010)

Figura 8 - Diagrama de fluxo do ensaio clínico

As características demográficas (sexo, idade, escolaridade, estado civil, ocupação) e clínicas (tipo de TB, idade de início, história de internação psiquiátrica e de sintomas psicóticos, comorbidade com abuso ou dependência de álcool e de outras substâncias e com transtorno de ansiedade ao longo da vida, uso atual de diferentes classes de psicotrópicos, pontuação nas escalas, IMC) no *baseline* dos pacientes que receberam ao menos uma reavaliação (visita 2) foram similares nos dois grupos (Tabela 3).

Tabela 3 - Características demográficas e clínicas dos sujeitos que foram seguidos pelo menos até a visita 2 no ensaio clínico

Característica	Grupo creatina (N=16)	Grupo placebo (N=11)	P
Variáveis demográficas			
Sexo feminino, N (%)	12 (75,0%)	8 (72,7%)	1,000 ^c
Idade, média (DP)	44,5 (8,4)	43,0 (10,2)	0,679 ^b
Anos de escolaridade, média (DP)	13,4 (2,34)	11,9 (3,67)	0,254 ^b
Estado civil			0,648 ^a
Casado, N (%)	5 (31,3%)	5 (45,5%)	
Solteiro, N (%)	7 (43,8%)	4 (36,4%)	
Amasiado, N (%)	2 (12,5%)	1 (9,1%)	
Divorciado, N (%)	1 (6,3%)	0 (0,0%)	
Separado, N (%)	0 (0,0%)	1 (9,1%)	
Viúvo, N (%)	1 (6,3%)	0 (0,0%)	
Ocupação atual			0,509 ^a
Trabalhando, N (%)	7 (43,8%)	2 (18,2%)	
Do lar, N (%)	1 (6,2%)	1 (9,1%)	
Desempregado, N (%)	6 (37,5%)	6 (54,5%)	
Em licença médica, N (%)	2 (12,5%)	1 (9,1%)	
Aposentado por invalidez, N (%)	0 (0,0%)	1 (9,1%)	

continua

Tabela 3 - Características demográficas e clínicas dos sujeitos que foram seguidos pelo menos até a visita 2 no ensaio clínico (conclusão)

Característica	Grupo creatina (N=16)	Grupo placebo (N=11)	P
Variáveis clínicas			
TB			1,000 ^c
Tipo I, N (%)	10 (62,5%)	7 (63,6%)	
Tipo II, N (%)	6 (37,5%)	4 (36,4%)	
Idade de início do TB, média (DP)	23,4 (11,4)	20,8 (9,0)	0,586 ^b
Sintomas psicóticos ao longo da vida, N (%)	11 (68,8%)	6 (54,5%)	0,687 ^c
Hospitalização psiquiátrica prévia, N (%)	9 (56,2%)	3 (27,3%)	0,239 ^c
Uso atual de medicações			
Lítio, N (%)	3 (18,8%)	3 (27,3%)	0,662 ^c
Anticonvulsivante, N (%)	12 (75,0%)	10 (90,9%)	0,618 ^c
Antipsicótico atípico, N (%)	10 (62,5%)	6 (54,5%)	0,710 ^c
Antidepressivo ISRS/ISRSN, N (%)	3 (18,8%)	4 (36,4%)	0,391 ^c
Outro antidepressivo, N (%)	2 (12,5%)	1 (9,1%)	1,000 ^c
Benzodiazepínico/hipnótico, N (%)	5 (31,3%)	5 (45,5%)	0,687 ^c
Comorbidade psiquiátrica ao longo da vida			
Abuso/dependência de álcool, N (%)	1 (6,2%)	2 (18,2%)	0,549 ^c
Abuso/dependência de substância não-alcoólica, N (%)	1 (6,2%)	0 (0,0%)	1,000 ^c
Transtorno de ansiedade, N (%)	5 (31,3%)	10 (90,9%)	0,075 ^a
Pontuação nas escalas			
MADRS, média (DP)	27,1 (5,4)	30,1 (5,2)	0,167 ^b
HAMD-17, média (DP)	15,1 (4,3)	17,8 (3,5)	0,103 ^b
YMRS, média (DP)	1,31 (1,40)	2,55 (1,64)	0,046 ^b
CGI-S, média (DP)	4,38 (0,50)	4,27 (0,47)	0,567 ^b
FAST, média (DP)	34,0 (14,7)	50,2 (14,3)	0,010 ^b
IMC, média (DP)	28,0 (4,3)	28,3 (5,3)	0,851 ^b

^a Calculado pelo teste do qui-quadrado^b Calculado pelo teste t^c Calculado pelo teste exato de Fisher

Vinte e três (23) pacientes completaram o estudo. Não houve diferença significativa nas taxas de abandono entre os grupos de tratamento: 29,4% no grupo creatina (N=5) e 38,9% no grupo placebo (N=7) ($\chi^2 = 0,054$; $df=1$; $p=0,815$). Um paciente no grupo placebo abandonou o seguimento antes da primeira avaliação devido ter-se empregado, o que o indisponibilizou a comparecer em reavaliações. Dois sujeitos no grupo placebo abandonaram o seguimento antes da visita 2 e não conseguimos mais contactá-los. Três pacientes alocados no grupo placebo foram excluídos do estudo por desvio de protocolo (alteraram as medicações ou dosagens das mesmas sem o consentimento do pesquisador-executante) antes da primeira reavaliação; o mesmo ocorreu com um paciente do grupo creatina pouco após a visita 2. Excluimos um sujeito do grupo creatina na visita 4 devido piora da depressão e ideação suicida e outro paciente do grupo creatina na visita 2 devido piora da depressão e relato de tentativa de suicídio na semana anterior. Um paciente do grupo creatina foi excluído na visita 2 devido virada para hipomania e outro do mesmo grupo antes da visita 2 devido virada para mania. Excluimos um paciente do grupo placebo antes da visita 2 devido abuso de álcool nos primeiros 10 dias do ensaio clínico.

Duas alterações na prescrição, todas devido insônia importante, foram efetuadas ao longo do estudo no grupo creatina (12,5%) e uma no grupo placebo (9,1%) ($p=1,000$; teste exato de Fisher). Para um paciente do grupo creatina prescreveu-se zolpidem 10mg/dia e, para outro do mesmo grupo, zopiclona 7,5mg/dia. Um paciente do grupo placebo teve aumento da dosagem prescrita de nitrazepam de 5 para 10mg/dia à noite.

A adesão à medicação do estudo foi bastante elevada em ambos os grupos (96,7% no grupo creatina e 99,5% no grupo placebo; $p=0,117$).

6.2 Análise por intenção-de-tratar

Consideramos os 27 pacientes (N=16 no grupo creatina e N=11 no grupo placebo) que receberam pelo menos uma reavaliação no ensaio clínico (visita 2) e realizamos análise por intenção-de-tratar pelo método da *last-observation-carried-forward* (LOCF). Não houve diferenças estatisticamente significativas no *baseline* entre os grupos de tratamento quanto a sexo ($p=1,000$; teste exato de Fisher), idade ($p=0,679$; teste t de Student), idade do primeiro episódio da doença ($p=0,586$; teste t de Student) e pontuações na MADRS ($p=0,167$; teste t de Student), HAMD-17 ($p=0,103$; teste t de Student) e CGI-S ($p=0,597$; teste t de Student). O grupo placebo apresentava pontuações mais elevadas na YMRS ($p=0,046$; teste t de Student) e na FAST ($p=0,010$; teste t de Student).

Não encontramos diferenças estatisticamente significativas na comparação entre os grupos na análise por intenção-de-tratar nas alterações das pontuações na MADRS ($p=0,560$; teste t de Student), HAMD-17 ($p=0,345$; teste t de Student), YMRS ($p=0,125$; teste t de Student), CGI-S ($p=0,317$; teste t de Student) ou FAST ($p=0,615$; teste t de Student) após 6 semanas (Tabela 4).

Tabela 4 - Pontuações em escalas psicométricas no *baseline* e na semana 6 dos sujeitos que receberam pelo menos uma reavaliação segundo LOCF

Escala	Grupo creatina		Grupo placebo		t	P ^a
	Baseline	Semana 6	Baseline	Semana 6		
	(N=16) Média (dp)	(N=16) Média (dp)	(N=11) Média (dp)	(N=11) Média (dp)		
MADRS	27,1 (5,40)	13,1 (8,49)	30,1 (5,19)	18,3 (9,87)	-0,591	0,560
HAMD	15,1 (4,27)	7,87 (4,96)	17,8 (3,55)	12,3 (4,69)	-0,964	0,345
YMRS	1,31 (1,40)	4,00 (6,29)	2,55 (1,64)	1,82 (2,75)	1,588	0,125
CGI-S	4,38 (0,50)	2,94 (0,93)	4,27 (0,47)	3,27 (1,19)	-1,021	0,317
FAST	34,0 (14,7)	19,2 (16,2)	50,2 (14,3)	29,7 (18,9)	0,512	0,615

^a calculado pelo teste t de Student

Também não encontramos diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de tratamento nas taxas de resposta ou de remissão na análise por intenção-de-tratar. Oito (8) pacientes (50,0%) no grupo creatina e 4 (36,4%) no grupo placebo tiveram redução de pelo menos 50% da pontuação na MADRS ($p=0,696$; teste exato de Fisher); 14 pacientes (87,5%) no grupo creatina e 7 (63,6%) no grupo placebo apresentaram diminuição de pelo menos 25% da pontuação na MADRS ($p=0,187$; teste exato de Fisher). Três (3) pacientes (18,8%) no grupo creatina e 1 paciente (9,1%) no grupo placebo obtiveram remissão ($p=0,624$; teste exato de Fisher).

As Figuras 9, 10 e 11 mostram as mudanças das pontuações na MADRS, HAMD-17 e CGI-S a cada visita conforme LOCF.

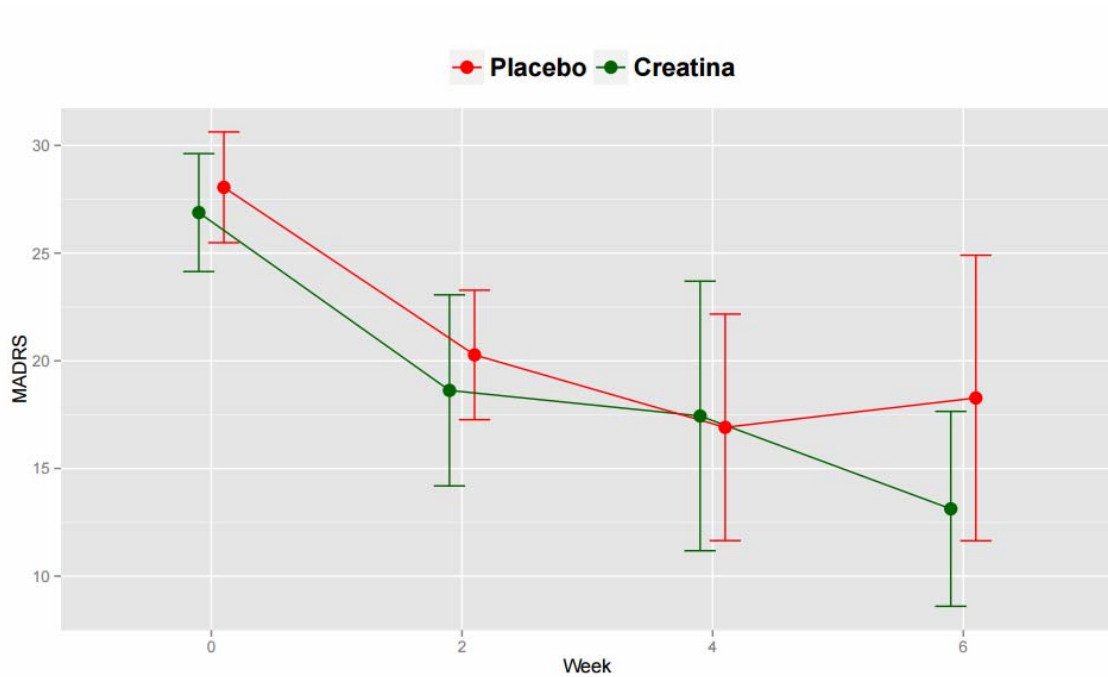


Figura 9 - Pontuação média na MADRS considerando-se apenas os pacientes que tiveram pelo menos uma reavaliação

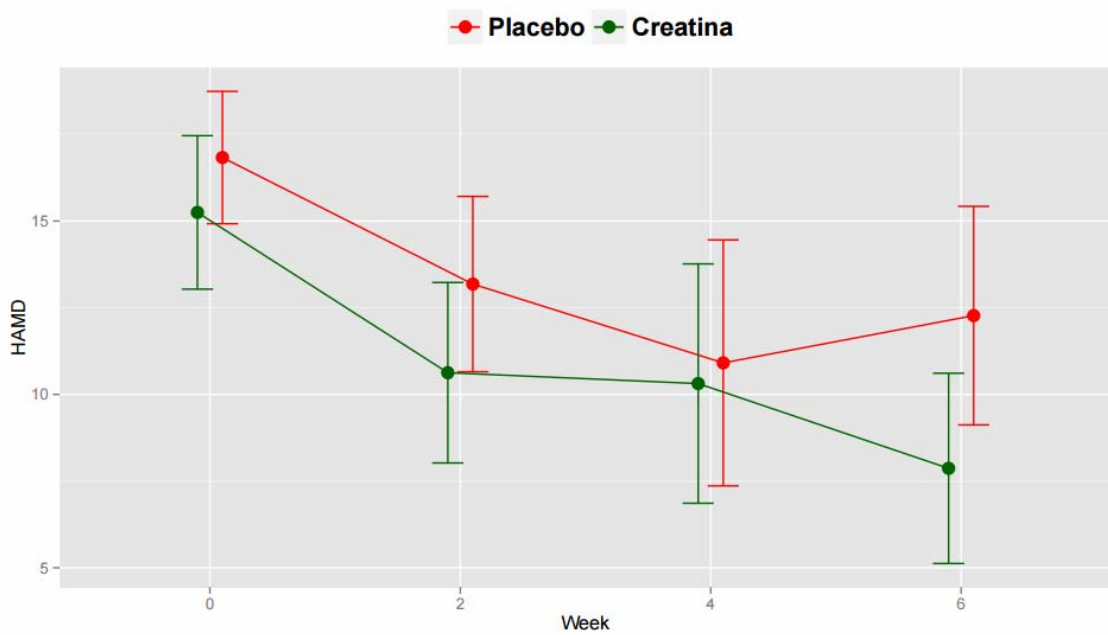


Figura 10 - Pontuação média na HAMD-17 considerando-se apenas os pacientes que tiveram pelo menos uma reavaliação

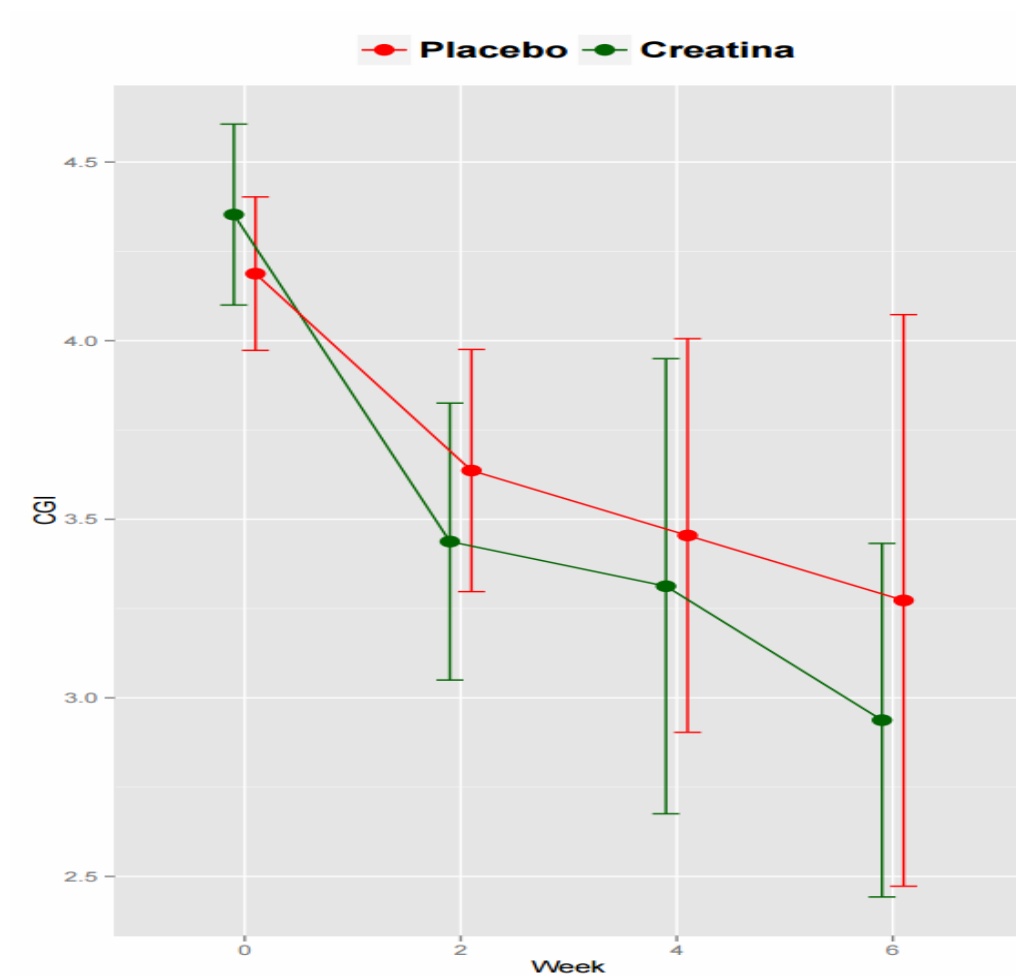


Figura 11 - Pontuação média na CGI-S considerando-se apenas os pacientes que tiveram pelo menos uma reavaliação

Comparamos também a alteração na pontuação da MADRS após 6 semanas entre os grupos de tratamento considerando por intenção-de-tratar apenas os pacientes do sexo feminino (N=20) que receberam pelo menos uma reavaliação, e não encontramos diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,814$; teste t de Student).

6.3 Análise *per-protocol*

Procedemos à análise considerando apenas os pacientes que completaram as 6 semanas do ensaio clínico (N=12 no grupo creatina; N=11 no grupo placebo), o que chamamos de análise *per protocol* ou dos *completers*. Não havia diferenças estatisticamente significativas no *baseline* entre os grupos de tratamento quanto a sexo (p=1,000; teste exato de Fisher), idade (p=0,454; teste t de Student), idade do primeiro episódio da doença (p=0,603; teste t de Student) e pontuações na MADRS (p=0,063; teste t de Student), HAMD-17 (p=0,077; teste t de Student) e YMRS (p=0,060; teste t de Student), CGI-S (p=0,765; teste t de Student). O grupo placebo apresentava pontuações mais elevadas na FAST (p=0,028; teste t de Student).

A Tabela 5 mostra que não houve diferenças estatisticamente significativas na comparação entre os grupos das alterações das pontuações das escalas psicométricas entre o *baseline* e a visita 6, considerando os 23 pacientes que completaram o estudo.

Tabela 5 - Pontuações em escalas psicométricas no *baseline* e na semana 6 dos sujeitos que completaram o ensaio clínico

Escala	Grupo creatina		Grupo placebo		t	p ^a
	<i>Baseline</i> (N=12) Média (dp)	Semana 6 (N=12) Média (dp)	<i>Baseline</i> (N=11) Média (dp)	Semana 6 (N=11) Média (dp)		
MADRS	25,8 (5,4)	10,8 (7,0)	30,1 (5,2)	18,3 (9,9)	-0,795	0,435
HAMD	15,0 (3,9)	7,0 (4,4)	17,8 (3,5)	12,3 (4,7)	-1,266	0,219
YMRS	1,25 (1,49)	3,75 (6,18)	2,55 (1,64)	1,82 (2,75)	1,490	0,151
CGI-S	4,33 (0,49)	2,67 (0,89)	4,27 (0,47)	3,27 (1,19)	-1,417	0,171
FAST	35,7 (14,3)	19,2 (16,2)	50,2 (14,3)	29,7 (18,9)	0,512	0,615

^a calculado pelo teste t de Student

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento nas duas faixas de resposta ao tratamento consideradas. Seis (6) pacientes no grupo creatina (50,0%) e 4 no grupo placebo (36,4%) apresentaram redução de pelo menos 50% da pontuação na MADRS após 6 semanas de tratamento ($p=0,680$; teste exato de Fisher). Onze (11) pacientes no grupo creatina (91,7%) e 7 (63,6%) no grupo placebo exibiram redução de pelo menos 25% da pontuação na MADRS ($p=0,155$; teste exato de Fisher). Também não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento nas taxas de remissão após 6 semanas: 4 pacientes (33,3%) remitiram no grupo creatina e 1 no grupo placebo (9,1%) ($p=0,317$; teste exato de Fisher).

6.4 Avaliação neuropsicológica

Vinte (20) pacientes inclusos no ensaio clínico foram submetidos a bateria de testes neuropsicológicos nas visitas 0 e 6. Os resultados dos testes de dois destes sujeitos (um do grupo creatina, outro do grupo placebo) não foram inclusos nas análises devido devido QI estimado menor que 80. Os grupos creatina (N=9) e placebo (N=9) eram equiparáveis quanto a sexo, idade, anos de escolaridade e QI estimado (Tabela 6). A Tabela 7 exibe a comparação entre os grupos de tratamento da alteração dos resultados nos testes neuropsicológicos entre a semana 6 e o *baseline*. Houve diferença estatisticamente significativa na alteração do desempenho no teste de fluência verbal, com melhora no grupo que recebeu tratamento adjuvante com creatina em relação ao grupo placebo.

Tabela 6 - Características de 18 pacientes com depressão bipolar submetidos a testes neuropsicológicos

	Grupo creatina (N=9)	Grupo placebo (N=9)	P
Idade, média (dp)	43,0 (8,1)	43,8 (10,7)	0,778 ^a
Anos de escolaridade, média (dp)	12,7 (2,3)	12,6 (3,2)	0,934 ^a
QI estimado, média (dp)	95,9 (6,9)	97,1 (10,9)	0,781 ^a
Sexo feminino, N (%)	7 (77,8%)	6 (66,7%)	1,000 ^b

^a calculado pelo teste t^b calculado pelo teste exato de Fisher**Tabela 7** - Mediana e intervalo interquartil da alteração dos testes neuropsicológicos entre a semana 6 e o *baseline*

Teste	Creatina	Placebo	p ^a
HAMD-17	-4 [-5 , -2]	-7 [-9 ; -2]	0,227
YMRS	-1 [-2 , -1]	0 [0 ; 2]	0,107
STROOP1	-1 [-3 , 2]	2 [-2 ; 5]	0,268
STROOP2	-2 [-9 , 0]	-3 [-3 ; 5]	0,329
STROOP3	-3 [-8 , 0]	2 [-3 ; 5]	0,111
ERRO_STROOP1	0 [0 , 0]	0 [0 ; 0]	1,000
ERRO_STROOP2	0 [0 , 0]	0 [0 ; 0]	0,654
ERRO_STROOP3	0 [0 , 2]	0 [0 ; 2]	0,547
FLUÊNCIA VERBAL_TOTAL	3 [-1 , 8]	-2 [-5 ; 1]	0,030
FIGURA DE_REY	0 [0 , 1]	0 [-1 ; 1]	0,585
FIGURA DE REY_MEM	8 [4 , 9]	5 [0 ; 9]	0,374
WCST_CAT	1 [0 , 1]	1 [0 ; 1]	0,810
WCST_COR	4 [0 , 8]	1 [-1 ; 9]	0,594
WCST_ER	-4 [-8 , 0]	-1 [-9 ; 1]	0,594
WCST_PER	0 [-2 , 0]	0 [-3 ; 0]	0,817
WCST_RESP	0 [-3 , 0]	0 [-1 ; 0]	0,715
WCST_SET	0 [0 , 0]	0 [0 ; 1]	0,197
DÍGITOS	1 [0 , 3]	1 [0 ; 2]	0,893

^a teste de Mann-Whitney

Legenda: WCST: Wisconsin Card Sorting Test

6.5 Segurança e tolerabilidade

Todos os efeitos adversos relatados ou observados durante o ensaio clínico foram leves, transitórios, melhoraram ou remitiram sem intervenções específicas e resultaram em pouco ou nenhum impacto clínico (Tabela 8).

Tabela 8 - Eventos adversos ocorridos durante o estudo

Evento adverso	Grupo creatina (N=16)	Grupo placebo (N=11)	P ^a
	N (%)	N (%)	
Prurido	1 (6,3)	2 (18,2)	0,548
Caimbras	1 (6,3)	1 (9,1)	1,000
Cefaléia	2 (12,5)	6 (54,5)	0,033
Constipação	3 (18,8)	3 (27,3)	0,662
Diarréia	2 (12,5)	1 (9,1)	1,000
Edema MMII	2 (12,5)	2 (18,2)	1,000
Náusea	0 (0,0)	3 (27,3)	0,056
Vômito	0 (0,0)	1 (9,1)	0,407
Refluxo	1 (6,3)	2 (18,2)	0,549
Sonolência	1 (6,3)	3 (27,3)	0,273
Tontura/vertigem	2 (12,5)	2 (18,2)	1,000
Astenia	0 (0,0)	3 (27,3)	0,056
Dor abdominal	1 (6,3)	3 (27,3)	0,273
Outros	1 (6,3) ^b	1 (9,1) ^c	

^a teste exato de Fisher

^b azia

^c sudorese

A Tabela 9 mostra os perfis laboratoriais dos grupos de tratamento com respeito à creatinina e uréia séricas. Nenhum paciente apresentou níveis de creatinina ou de uréia séricas acima dos limites superiores da normalidade tanto no *baseline* quanto após 6 semanas de tratamento.

Tabela 9 - Perfis laboratoriais de sujeitos com depressão bipolar alocados randomicamente a tratamento adjuvante com creatina ou placebo

Perfil laboratorial	Semana	Grupo creatina N	Média (dp)	Grupo placebo N	Média (dp)	p^a
Creatinina sérica, mg/dL	<i>Baseline</i>	17	0,77 (0,23)	17	0,82 (0,22)	0,503
	Semana 6	11	0,88 (0,17)	11	0,84 (0,18)	0,563
Uréia sérica, mg/dL	<i>Baseline</i>	17	29,1 (7,1)	16	26,8 (8,8)	0,412
	Semana 6	10	26,3 (5,1)	11	30,3 (9,6)	0,258

^a calculado pelo teste t

7 Discussão

7 DISCUSSÃO

O presente estudo é, para nosso conhecimento, o primeiro ensaio clínico duplo-cego, randomizado e controlado com placebo que avaliou a eficácia, segurança e tolerabilidade do monodrato de creatina como terapia adjuvante para a depressão bipolar.

Os pacientes incluídos no estudo encontravam-se em episódio depressivo de gravidade moderada segundo a pontuação na MADRS (média=27,1; dp=5,4 no grupo creatina e média=30,1; dp=5,2 no grupo placebo). Estas médias de pontuação na MADRS no *baseline* foram bastantes próximas às da amostra (N=52) de sujeitos com depressão unipolar estudada por Lyoo et al. no ensaio randomizado, duplo-cego, controlado com placebo de monodrato de creatina (5g/dia durante 8 semanas) como potencializador de resposta a escitalopram, e que encontrou eficácia deste composto a partir de 2 semanas de tratamento conforme pontuações na HAMD, MADRS e CGI.

Encontramos em nosso estudo taxas de resposta completa (redução de pelo menos 50% da pontuação na MADRS) após 6 semanas de 50% no grupo creatina tanto na análise por intenção-de-tratar quando na dos pacientes que completaram as seis semanas do ensaio clínico. Esta taxa de resposta é próxima das que foram encontradas em estudos de eficácia dos principais tratamentos atualmente preconizados para depressão bipolar, as quais atingem taxa de resposta à droga ativa de 55,1% segundo dados agrupados de 17 estudos randomizados, duplo-cegos, controlados com placebo de monoterapia (N=6578) (Iovieno et al., 2016).

Por outro lado, nosso estudo encontrou elevada taxa de resposta no grupo placebo (36,4%). Em estudos com taxas altas de resposta a placebo, a conclusão de que a droga não é eficaz pode ser alcançada com certeza muito menor. Iovieno et al. investigou o impacto das taxas de resposta (definida como redução de pelo menos 50% na pontuação final em relação

ao *baseline*) a placebo no risco relativo de resposta a droga *versus* placebo nos ensaios clínicos duplo-cegos, randomizados e controlados com placebo de drogas utilizadas em monoterapia para depressão bipolar. As taxas de resposta agrupadas para droga e placebo foram 55,1% e 39,2%, correspondendo a razão de risco (RR) de responder ao tratamento ativo *versus* placebo de 1,29 ($p < 0,001$). Uma taxa maior de resposta a placebo correlacionou-se com um RR significativamente menor. As taxas de resposta a droga e placebo agrupadas para estudos com taxa de resposta a placebo $\leq 30\%$ foram 50.5% *versus* 26.6%, enquanto valores correspondentes para estudos com taxa de resposta a placebo $> 30\%$ foram 55.0% *versus* 41.6%. Estes resultados sugerem que a eficácia relativa da droga ativa comparada a placebo em ensaios clínicos para depressão bipolar são bastantes heterogêneos entre estudos com diferentes taxas de resposta a placebo, com um desempenho relativo pior da droga ativa em estudos com taxas de resposta a placebo $> 30\%$, como é o caso do estudo contemplado nesta tese. Os autores salientam ser importante manter taxas de resposta a placebo abaixo deste limiar crítico; para tanto, desenhos de estudo que reduzem a resposta a placebo, como o desenho de comparação paralela sequencial (Fava et al., 2003; Baer; Ivanova, 2013), podem ter um papel crítico em aumentar a detecção de sinal em ensaios para depressão bipolar (Iovieno et al., 2016). O desenho de comparação paralela sequencial consiste essencialmente em dois ensaios randomizados (ou dois estágios) de igual duração executados um após o outro. Num primeiro estágio, os indivíduos são randomizados para receber a droga ativa ou placebo, com a maioria dos indivíduos sendo alocados para o grupo placebo. Ao término do primeiro estágio, o grupo placebo é analisado e os sujeitos que não responderam a placebo são re-randomizados, com metade recebendo a droga e metade recebendo placebo durante o segundo estágio. Os resultados dos dois estágios são agrupados, utilizando-se os dados de todos os pacientes no primeiro estágio e os dados no segundo estágio apenas dos não-respondedores a placebo a partir do estágio 2. Este agrupamento dos dados reduz de maneira importante a taxa de resposta geral a placebo, a qual é

ponderada considerando-se os dois estágios e reflete a taxa de resposta marcadamente mais baixa no segundo estágio, onde os pacientes que não responderam a placebo no primeiro estágio mostram propensão a terem uma resposta a placebo muito baixa. Uma vantagem adicional do desenho de comparação paralela sequencial é que ele permite manter o mesmo nível de poder com amostras 20 a 50% menores, já que os dados dos pacientes não-respondedores a placebo são utilizados duas vezes (Fava, 2016).

As taxas de abandono ao longo do estudo, embora não tenham diferido significativamente entre os grupos, foram relativamente elevadas (29,4% no grupo creatina e 38,9% no grupo placebo). Sabemos que em ensaios clínicos randomizados é importante que tenhamos as menores taxas possíveis de abandono, a fim de que não se perca os benefícios da randomização no que tange à distribuição equitativa de possíveis variáveis confundidoras entre os grupos. Entretanto, verificamos que, tanto para a análise por intenção-de-tratar dos sujeitos que completaram pelo menos uma reavaliação quanto para a dos que completaram as 6 semanas, as variáveis potencialmente confundidoras mais importantes permaneceram equilibradas entre os dois grupos de tratamento.

Escolhemos a alteração de pontuação na MADRS como medida de desfecho clínico primário, ao contrário do estudo de Lyoo et al. (2012) em unipolares que escolheu a HAMD. A MADRS foi originalmente designada para remediar as limitações psicométricas da HAMD e para ser mais sensível a mudanças de pontuação durante o tratamento. Ela focaliza em sintomas nucleares da síndrome depressiva, em detrimento de sintomas somáticos e psicomotores, e diferencia melhor as depressões unipolares das bipolares, pelo menos as do tipo I (Carneiro et al., 2015). No estudo objeto desta tese, as pontuações nas escalas tiveram sua confiabilidade reforçada por terem sido aplicadas em todas as visitas pelo mesmo avaliador.

Nossa amostra incluiu pacientes de ambos os sexos, embora com predomínio feminino (75,0% no grupo creatina e 72,7% no grupo placebo). A amostra de unipolares estudada por Lyoo et al. (2012) incluía apenas

mulheres. Semelhantemente, Kondo et al. (2011) estudaram adolescentes apenas do sexo feminino com depressão unipolar que estavam em uso de fluoxetina há pelo menos 8 semanas em estudo aberto. Elas receberam 4g por dia de creatina por 8 semanas e tiveram significativo aumento na PCr medido na 31P-MRS; a pontuação na escala de sintomas depressivos CDRS-R (*Children's Depression Rating Scale - Revised*) decresceu 56%. Dados de estudos pré-clínicos em animais sugerem que a creatina pode ter propriedades antidepressivas que favorecem especificamente o sexo feminino (Allen et al., 2010a; Allen et al., 2010b). Especula-se que as variações cíclicas dos hormônios ovarianos, particularmente do estradiol, estimulam a atividade da creatina-quinase e amplificam a taxa com que o ATP é restaurado pela PCr nos neurônios, potencializando os efeitos antidepressivos da creatina no sexo feminino (Kondo et al., 2011). Na mesma linha, Renshaw et al. (2001) observaram que alterações dos níveis cerebrais em fosfatos de alta energia foram preditoras de resposta a ISRS em mulheres com depressão unipolar, mas não em homens, e Nery et al. (2009) verificaram que os níveis de creatina total medidos por 1H-MRS em voluntários saudáveis e pacientes deprimidos variaram em função do sexo no córtex pré-frontal dorsolateral.

Uma grande porcentagem de pacientes no estudo de Lyoo et al. nunca tinham tomado medicações psicotrópicas, além de que os voluntários deveriam estar há pelo menos 8 semanas sem usar nenhum psicotrópico. Em nosso estudo, os pacientes já vinham utilizando medicações habitualmente prescritas para o tratamento da depressão bipolar na prática clínica sem que tivessem apresentado resposta, o que pode denotar uma população com sintomas depressivos mais resistentes ao tratamento. Reforcemos ainda a título de comparação entre os estudos que, embora conheçamos evidências de que ocorram na patofisiologia da depressão unipolar alterações na bioenergética e nas funções mitocondriais que sinalizam na mesma direção que as encontrada para o TB (Gardner; Boles, 2011), não sabemos em que níveis estas alterações fisiopatológicas são coincidentes em suas bases biológicas mais precisamente, o que não nos

permite simplesmente extrapolar dados de eficácia de moduladores mitocondriais na depressão unipolar para a depressão bipolar.

Dois pacientes do grupo creatina foram excluídos do estudo durante as duas primeiras semanas devido virada para hipomania e mania. Conquanto nada possamos concluir a respeito de um possível papel da creatina nestes eventos, eles nos remetem ao ensaio aberto com 3-5g/dia de creatina de Roitman et al. (2007). Este estudo observou que os dois pacientes com TB inclusos na amostra mista de bipolares e unipolares com depressão resistente viraram para hipomania e mania antes da quarta semana de tratamento.

Quanto aos efeitos colaterais relatados ao longo do presente estudo, estes foram raros, leves e transitórios, à semelhança dos estudos que utilizaram o monidrato de creatina como tratamento para diversas condições clínicas, neurológicas, psiquiátricas ou como ergogênico (Kim et al., 2011). Nenhum sujeito abandonou o estudo devido intolerância ao tratamento.

Encontramos em nosso estudo melhora no desempenho do teste que mediu fluência verbal no grupo que recebeu creatina, em comparação ao grupo que recebeu placebo. Por muitos anos acreditou-se que o TB não estava associado a prejuízo na cognição, e o retorno à função cognitiva normal era considerado como uma característica que distinguiu o TB da esquizofrenia. Entretanto, ao longo das duas últimas décadas, os estudos foram indicando que o TB está associado a prejuízos cognitivos clinicamente significativos tanto durante os episódios da doença quanto em períodos de eutímia. No todo, sintomas depressivos e prejuízo cognitivo são responsáveis pela maior parte da disfuncionalidade produzida pelo TB.

Diversos estudos avaliaram a cognição em amostras de pacientes com TB durante a presença de sintomas depressivos *versus* estados eutímicos ou hipo/maníacos. Houve considerável variabilidade, com uma meta-análise (Kurtz; Gerraty, 2009) encontrando alguma evidência de que a depressão bipolar está associada com maiores prejuízos na fluência e no

aprendizado verbais. Um estudo prospectivo de 1 ano em pacientes de primeiro episódio evidenciou maior risco para recaída em pacientes com déficit na memória verbal (Muralidharan et al., 2014).

Alguns investigadores têm proposto que o TB envolve um declínio neurodegenerativo progressivo na função cognitiva e que o TB está associado a neuroprogressão (Goodwin et al., 2008; Berk et al., 2011). Embora a revisão de Robinson e Ferrier (2006) tenha encontrado evidência de que pacientes com maior número de hospitalizações, maior duração da doença e sintomas maníacos mais graves tenham maior chance de apresentar prejuízos cognitivos, estudos longitudinais têm sugerido que os sintomas depressivos precedem e predizem o declínio da memória em adultos idosos não-demenciados, deixando aberta a possibilidade de que sintomas depressivos possam contribuir para declínio cognitivo no TB se medidos longitudinalmente (Zahodne; Manly, 2014).

Os prejuízos cognitivos estão associados a prejuízos psicossociais no TB (Depp et al., 2012a). Prejuízo cognitivo e depressão provavelmente amplificam-se reciprocamente produzindo disfuncionalidade. Prejuízo cognitivo parece estar mais associado a desemprego, enquanto sintomas depressivos a menor produtividade (Depp et al., 2012b).

Estudos de neuroimagem no TB têm consistentemente encontrado alterações difusas da integridade da substância branca (Nortje et al., 2013), as quais estão associadas a déficits na velocidade de processamento, função executiva, fluência verbal e regulação emocional (Bearden et al., 2001). Um estudo recente com DTI (diffusion tensor imaging) associou estas alterações a pior fluência verbal numa amostra de pacientes com depressão bipolar (Bauer et al., 2015).

Quanto às dimensões cognitivas avaliadas pelos testes neuropsicológicos aplicados no presente estudo, encontramos melhora significativa apenas na fluência verbal dos pacientes tratados por 6 semanas com creatina quando comparados com os do grupo controle. Este achado de melhora na fluência verbal corrobora os do estudo *crossover* duplo-cego,

controlado com placebo que observou melhora na velocidade de processamento em 45 jovens vegetarianos que receberam 5g/dia de monidrato de creatina durante 6 semanas (Rae et al., 2003a). Como limitação do nosso estudo, desconhecemos os padrões dietéticos dos pacientes e sua possível influência nos achados.

Não avaliamos quanto aos testes neuropsicológicos um grupo controle de indivíduos saudáveis, portanto não pudemos calibrar a extensão da disfunção cognitiva na amostra inclusa em nosso estudo. Assim, não podemos excluir que tenha ocorrido um “efeito teto”, isto é, os pacientes que receberam avaliação neuropsicológica podem ter tido desempenho normal nos testes e portanto não puderam mostrar significativas melhoras de desempenho ao longo do tratamento para a depressão.

No todo, entretanto, de fato a literatura parece apontar para menor evidência de potencialização cognitiva com a administração crônica de creatina, em comparação aos estudos de menor duração. Por exemplo, a administração de cerca de 2 g/dia por 6 semanas não trouxe efeito em jovens saudáveis em diversas tarefas cognitivas e psicomotoras (incluindo medidas de tempo de reação, processamento de informação e memória) em estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo (Rawson et al., 2008). Outro estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo avaliou o impacto sobre extensa bateria de testes cognitivos da administração de monidrato de creatina (20 g/dia por 5 dias seguida de 5 g/dia até 24 semanas) em idosos, e não encontrou nenhuma melhora das funções cognitivas com a creatina após 24 semanas (Alves et al., 2013).

Novas formas de creatina tem sido introduzidas no mercado e submetidas a estudo para variadas indicações (Jäger et al., 2011). Um estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo recente avaliou o impacto em testes neuropsicológicos de uma nova forma de creatina, o etil-éster de creatina, ministrada durante 2 semanas, na dosagem de 5g/dia, em jovens saudáveis, e encontrou melhora consistente no grupo creatina em tempos de reação, memória e QI (Ling et al., 2009).

Existem diversas limitações em nosso estudo, que devem ser consideradas ao se interpretar seus resultados.

Em primeiro lugar, ele consiste em um estudo de prova de conceito que buscou encontrar dados preliminares sobre a eficácia, segurança e tolerabilidade do monidrato de creatina como adjuvante no tratamento da depressão bipolar. Neste contexto, de fato detectamos reduções mais acentuadas das pontuações na MADRS no grupo que recebeu creatina (redução de 14 pontos no grupo creatina vs redução de 11,8 pontos no grupo placebo na análise por intenção-de-tratar; redução de 15 pontos no grupo creatina versus 11,8 no grupo placebo dos *completers*), conquanto tais diferenças não tenham atingido significância estatística. Nosso estudo não contou com poder estatístico adequado para detectar consistentemente tamanhos de efeito modestos. Portanto, seus achados que não atingiram limiares convencionais de significância estatística podem configurar erros do tipo II. Ensaio clínico de prova-de-conceito desta dimensão podem eventualmente vir a ser combinados em meta-análise, o que justificaria sua execução apesar da limitação de seu poder estatístico (Chalmers et al., 1987; Sackett; Cook, 1993; Schulz; Grimes, 2005).

Uma segunda limitação pode ser indicada na duração relativamente breve do tratamento (6 semanas), permanecendo indeterminado se a suplementação com creatina por tempo mais prolongado poderia provocar efeitos mais significativos sobre os sintomas depressivos. Berk et al. (2008) encontraram que o modulador mitocondrial N-acetilcisteína (NAC) adicionado ao tratamento usual no TB diminuiu significativamente sintomas depressivos e melhorou a qualidade de vida quando comparado a placebo apenas após a vigésima semana de tratamento num ensaio de 24 semanas, sugerindo que os moduladores mitocondriais podem levar mais tempo para trazer benefício clínico. Além disso, incluímos apenas pacientes em episódio depressivo, enquanto Berk incluiu pacientes independentemente do estado de humor. Portanto, é possível que moduladores mitocondriais sejam mais eficazes não como tratamentos de fase aguda, mas como terapias adjuvantes de manutenção visando a melhora nos sintomas subsindrômicos.

Uma terceira limitação foi a ausência de um braço de tratamento com uma dosagem diferente de creatina, o qual poderia fornecer informações a respeito de possível eficácia de doses maiores. Entretanto, ressalvemos que um recente estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo ministrou 2, 4 ou 10 g/dia de monoidrato de creatina por 8 semanas como tratamento adjuvante para adolescentes do sexo feminino com depressão unipolar resistente a ISRS (N=34) e não encontrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de tratamento quanto a melhora dos sintomas depressivos (Kondo et al., 2016)

Uma quarta limitação pode ser apontada na heterogeneidade clínica da amostra, composta por pacientes com TB do tipo I e do tipo II.

O *status* bioenergético cerebral aferido conforme medidas de metabólitos pela 1H- e 31P-MRS tem se mostrado correlacionado à eficácia antidepressiva em ensaios clínicos com substâncias variadas (Sonawalla et al., 1999; Iosifescu et al., 2008). Por exemplo, os níveis cerebrais de PCr pré-tratamento predisseram o status subsequente de “respondedor” versus “não-respondedor” a potencialização com triiodotironina na depressão resistente a tratamento com acurácia de 79% (83% de sensibilidade e 75% de especificidade) (Iosifescu et al., 2008). Sabemos também que o *status* bioenergético cerebral conforme 31P-MRS também prediz o desempenho cognitivo (Rae et al., 2003b). Neste contexto, torna-se relevante em ensaios clínicos futuros a medida dos níveis de PCr cerebral no *baseline* como um potencial preditor ou mediador da resposta antidepressiva à creatina, assim como de outros metabólitos cerebrais e biomarcadores periféricos possivelmente relacionados aos efeitos biológicos da creatina.

As evidências na literatura têm crescido em favor da relação entre a qualidade da dieta e saúde mental, e do uso seletivo de terapia com suplementos nutricionais. A *International Society for Nutritional Psychiatry Research* tem advogado um reconhecimento maior da importância da nutrição e da suplementação nutricional em Psiquiatria, advogando que a Medicina Nutricional passe a ser considerada como uma especialidade de

primeira ordem no contexto da prática psiquiátrica e que mais pesquisas, educação e políticas públicas dêem suporte a esta ciência (Sarris et al., 2015). Cerca de 30% dos pacientes com TB tomam suplementos alimentares em adição à prescrição médica, e 20% o fazem no longo prazo (Bauer et al., 2015). Em vista deste uso largamente difundido de suplementos nutricionais, métodos cientificamente rigorosos devem ser utilizados para verificar a eficácia destes suplementos e identificar que doses são úteis, para quem, quando e sob quais circunstâncias.

Algoritmos mais antigos de tratamento da depressão bipolar já incorporavam suplementos nutricionais em suas etapas (APA, 2002; Crimson et al., 2007). O algoritmo colaborativo da CANMAT/ISBD relaciona o ácido graxo ômega-3 EPA e a N-acetilcisteína (NAC) sob o rótulo de “tratamentos novos/experimentais” como um quinto passo do tratamento (Yatham et al., 2013). Considerando-se especificamente o papel dos moduladores mitocondriais na terapia do TB, devemos atentar a que, embora abundem evidências que apontam para disfunção mitocondrial na patofisiologia do TB, a causa desta última permanece obscura, tornando difícil o desenvolvimento de tratamentos específicos. Deve-se salientar outrossim que estratégias efetivas de potencialização das funções mitocondriais podem requerer diversos agentes, que tanto modulam múltiplos alvos mitocondriais quanto aumentam a atividade metabólica mitocondrial sem aumento concomitante no estresse oxidativo – uma estratégia que já foi proposta no tratamento de doenças mitocondriais na forma de um “coquetel” mitocondrial (Rodriguez et al., 2007; Tarnopolsky, 2008). Encontra-se em andamento um estudo multicêntrico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo de 16 semanas que compara 3 grupos de terapia adjuvante (placebo, N-acetilcisteína e um “coquetel” mitocondrial) ao tratamento usual para depressão bipolar (*Australian and New Zealand Clinical Trial Registry* ACTRN 12612000830897). O coquetel mitocondrial deste estudo contém N-acetilcisteína, acetil-L-carnitina, ubiquinona e ubidecarenona (formas de coenzima Q10), vitamina E, ácido alfa-lipóico, magnésio, tiamina, riboflavina, nicotinamida, pantotenato de cálcio,

piridoxina, ácido fólico, vitamina B₁₂, vitamina C, vitamina A, colecalciferol e biotina (Dean et al., 2015).

Resumindo, não pudemos encontrar no presente estudo evidências de que a intervenção farmacológica com monodrato de creatina durante 6 semanas e nesta dosagem (6 g/dia), que visava interferir na função mitocondrial e no metabolismo energético celular, tenha eficácia clínica no tratamento da depressão bipolar. Podemos especular que a intervenção estudada não modificou de maneira relevante estes aspectos neurobiológicos, embora não tenhamos medido biomarcadores, quer sejam periféricos ou de neuroimagem, que pudessem nos fornecer um caminho para investigar esta hipótese. Alternativamente, poderíamos pensar que nosso desenho experimental não permitiu uma minimização do efeito placebo, levando a um achado importante na melhora da depressão com creatina mas que não se diferenciou significativamente da resposta a placebo. Estudos com outros desenhos como a comparação paralela sequencial poderiam ser realizados no futuro visando uma melhor separação do efeito da creatina *versus* placebo. O modelo fisiopatológico do TB que contempla alterações no funcionamento das mitocôndrias e na bioenergética nos parece consistente por apoiar-se em farta literatura construída com evidências oriundas de estudos que utilizaram variada metodologia. Entretanto, permanece ainda como desafio para a pesquisa translacional repercutir estes achados na ciência clínica através de novos estudos que encontrem farmacoterapias eficazes dentro deste paradigma patofisiológico, particularmente para os episódios depressivos do TB que continuam carentes de melhores intervenções terapêuticas.

8 Conclusão

8 CONCLUSÃO

Neste estudo, o tratamento adjuvante da depressão bipolar com monidrato de creatina durante 6 semanas, conquanto seguro e bem tolerado, não se mostrou eficaz em quaisquer das medidas de desfecho clínico consideradas, seja pontuações nas escalas psicométricas ou taxas de resposta e remissão. Observou-se, outrossim, uma melhora na fluência verbal em pacientes que receberam o tratamento com creatina. Se, por um lado, os resultados deste ensaio não comprovaram nossas hipóteses clínicas, por outro podem sinalizar um papel da suplementação com creatina como potencializador cognitivo a ser explorado em novos estudos.

9 Referências

9 REFERÊNCIAS

Abdalla DS, Monteiro HP, Oliveira JA, Bechara EJ. Activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in schizophrenia and manic-depressive patients. *Clin Chem*. 1986;32(5):805-7.

Adcock KH, Nedelcu J, Loenneker T, Martin E, Wallimann T, Wagner BP. Neuroprotection of creatine supplementation in neonatal rats with transient cerebral hypoxia-ischemia. *Dev Neurosci*. 2002;24(5):382-8.

Adihetty PJ, Hood DA. Mechanisms of apoptosis in skeletal muscle. *Basic Appl Myol*. 2003;13:171-9.

Adihetty PJ, Beal MF. Creatine and its potential therapeutic value for targeting cellular energy impairment in neurodegenerative diseases. *Neuromolecular Med*. 2008;10(4):275-90.

Allen PJ. Creatine metabolism and psychiatric disorders: Does creatine supplementation have therapeutic value? *Neurosci Biobehav Rev*. 2012;36(5):1442-62.

Allen PJ, D'Anci KE, Darrell C, Galinko L, Salvatore J, Kanarek RB, Renshaw PF. Creatine supplementation offsets depressive behavior in female rats independent of fluoxetine. In: Society for Neuroscience 40th Annual Meeting, San Diego, CA; 2010a.

Allen PJ, D'Anci KE, Kanarek RB, Renshaw PF. Chronic creatine supplementation alters depression-like behavior in rodents in a sex-dependent manner. *Neuropsychopharmacology*. 2010b;35(2):534-46.

Allen PJ, D'Anci KE, Kanarek RB, Renshaw PF. Sex-specific antidepressant effects of dietary creatine with and without sub-acute fluoxetine in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2012;101(4):588-601.

Almeida LS, Salomons GS, Hogenboom R, Jakobs C, Schoffemeer AN. Exocytotic release of creatine in rat brain. *Synapse.* 2006;60(2):118-23.

Almeida OP, McCaul K, Hankey GJ, Norman P, Jamrozik K, Flicker L. Homocysteine and depression in later life. *Arch Gen Psychiatry.* 2008;65(11):1286-94.

Alves CRR, Merege Filho CAA, Benatti FB, Brucki S, Pereira RM, Sá Pinto AL, Lima FR, Roschel H, Gualano B. Creatine supplementation associated or not with strength training upon emotional and cognitive measures in older women: a randomized double-blind study. *PLoS One.* 2013;8(10): e76301.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition.* Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 1994.

Amital D, Vishne T, Roitman S, Kotler M, Levine J. Open study of creatine monohydrate in treatment-resistant posttraumatic stress disorder. *J Clin Psychiatry.* 2006a;67(5):836-7.

Amital D, Vishne T, Rubinow A, Levine J. Observed effects of creatine monohydrate in a patient with depression and fibromyalgia. *Am J Psychiatry.* 2006b;163(10):1840-1.

Amsterdam J. Efficacy and safety of venlafaxine in the treatment of bipolar II major depressive episode. *J Clin Psychopharmacol.* 1998;18(5):414-7.

Amsterdam JD, Lorenzo-Luaces L, Soeller I, Li SQ, Mao JJ, DeRubeis RJ. Short-term venlafaxine v. lithium monotherapy for bipolar type II major depressive episodes: effectiveness and mood conversion rate. *Br J Psychiatry*. 2016;208(4):359-65.

Andreassen OA, Dedeoglu A, Ferrante RJ, Jenkins BG, Ferrante KL, Thomas M, Friedlich A, Browne SE, Schilling G, Borchelt DR, Hersch SM, Ross CA, Beal MF. Creatine increase survival and delays motor symptoms in a transgenic animal model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis*. 2001;8(3):479-91.

Andreazza AC, Kapczinski F, Kauer-Sant'Anna M, Walz JC, Bond DJ, Gonçalves CA, Young LT, Yatham LN. 3-Nitrotyrosine and glutathione antioxidant system in patients in the early and late stages of bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci*. 2009b;34(4):263-71.

Andreazza AC, Cassini C, Rosa AR, Leite MC, de Almeida LM, Nardin P, Cunha AB, Cereser KM, Santin A, Gottfried C, Salvador M, Kapczinski F, Gonçalves CA. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *J Psychiatr Res* 2007a;41(6): 523-9.

Andreazza AC, Frey BN, Erdtmann B, Salvador M, Rombaldi F, Santin A, Gonçalves CA, Kapczinski F. DNA damage in bipolar disorder. *Psychiatry Res*. 2007b;153(1):27-32.

Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, Yatham LN.. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord*. 2008;111(2-3):135-44.

Andreazza AC, Shao L, Wang JF, Young LT. Mitochondrial complex I activity and oxidative damage to mitochondrial proteins in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2010;67(4):360-8.

Andreazza AC. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in bipolar disorder. *Eur Psychiatry*. 2009a;24:S15.

APA (American Psychiatric Association). Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder (revision). *Am J Psychiatry*. 2002;159(4 Suppl):1-50.

Arts B, Jabben N, Krabbendam L, Van Os J. Meta-analyses of cognitive functioning in euthymic bipolar patients and their first-degree relatives. *Psychol Med*. 2008;38(6):771-85.

Astin JA. Why patients use alternative medicine: results of a national study. *JAMA*. 1998;279(19):1548-53.

Attwell D, Laughlin SB. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001;21(10):1133-45.

Bachmann RF, Wang Y, Yuan P, Zhou R, Li X, Alesci S, Du J, Manji HK. Common effects of lithium and valproate on mitochondrial functions: protection against methamphetamine-induced mitochondrial damage. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2009;12(6):805-22.

Baer L, Ivanova A. When should the sequential parallel comparison design be used in clinical trials? *Clinical Trial Methodology*. 2013;3(9):823-33.

Bailey RL, Gahche JJ, Miller PE, Thomas PR, Dwyer JT. Why US adults use dietary supplements. *JAMA Intern Med*. 2013;173(5):355-61.

Baldessarini RJ, Leahy L, Arcona S, Gause D, Zhang W, Hennen J. Patterns of psychotropic drug prescription for U.S. patients with diagnoses of bipolar disorders. *Psychiatr Serv.* 2007;58(1):85-91.

Baron KT, Wang GJ, Padua RA, Campbell C, Thayer SA. NMDA-evoked consumption and recovery of mitochondrially targeted aequorin suggests increased Ca²⁺ uptake by a subset of mitochondria in hippocampal neurons. *Brain Res.* 2003;993(1-2):124-32.

Bartholow M. Top 200 drugs of 2012. *Pharmacy Times*. Wednesday, July 17. Disponível em: <http://www.pharmacytimes.com/publications/issue/2013/July2013/Top-200-Drugs-of-2012>.

Bauer IE, Ouyang A, Mwangi B, Sanches M, Zunta-Soares GB, Keefe RS, Huang H, Soares JC. Reduced white matter integrity and verbal fluency impairment in young adults with bipolar disorder: a diffusion tensor imaging study. *J Psychiatr Res.* 2015;62:115-22.

Bauer M, Glenn T, Conell J, Rasgon N, Marsh W, Sagduyu K, Munoz R, Lewitzka U, Bauer R, Pilhatsch M, Monteith S, Whybrow PC. Common use of dietary supplements for bipolar disorder: a naturalistic, self-reported study. *Int J Bipolar Disord.* 2015;3(1):29.

Baxter LR, Jr, Phelps ME, Mazziotta JC, Schwartz JM, Gerner RH, Selin CE, Sumida RM. Cerebral metabolic rates for glucose in mood disorders. Studies with positron emission tomography and fluorodeoxyglucose F 18. *Arch Gen Psychiatry.* 1985;42(5):441-7.

Baxter LR, Jr, Schwartz JM, Phelps ME, Mazziotta JC, Guze BH, Selin CE, Gemer RH, Sumida RM. Reduction of prefrontal cortex glucose metabolism common to three types of depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1989;46(3):243-50.

Bearden CE, Hoffman KM, Cannon TD. The neuropsychology and neuroanatomy of bipolar affective disorder: a critical review. *Bipolar Disord*. 2001;3(3):106-50.

Bender A, Beckers J, Schneider I, Hölter SM, Haack T, Ruthsatz T, Vogt-Weisenhorn DM, Becker L, Genius J, Rujescu D, Irmeler M, Mijalski T, Mader M, Quintanilla-Martinez L, Fuchs H, Gailus-Durner V, de Angelis MH, Wurst W, Schmidt J, Klopstock T. Creatine improves health and survival of mice. *Neurobiol Aging*. 2008a; 29(9):1404-11.

Bender A, Koch W, Elstner M, Schombacher Y, Bender J, Moeschl M, Gekeler F, Müller-Myhsok B, Gasser T, Tatsch K, Klopstock T. Creatine supplementation in Parkinson disease: A placebo-controlled randomized pilot trial. *Neurology* 2006;67(6):1262-4.

Bender A, Samtleben W, Elstner M, Klopstock T. Long-term creatine supplementation is safe in aged patients with Parkinson disease. *Nutr Res*. 2008b;28(3):172-8.

Benes FM, Matzilevich D, Burke RE, Walsh J. The expression of proapoptosis genes is increased in bipolar disorder, but not in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 2006;11(3): 241-51.

Benkert O, Graf-Morgenstern M, Hillert A, Sandmann J, Ehmig SC, Weissbecker H, Kepplinger HM, Sobota K. Public opinion on psychotropic drugs: an analysis of the factors influencing acceptance or rejection. *J Nerv Ment Dis* 1997;185(3):151-8.

Ben-Shachar D, Karry R. Neuroanatomical pattern of mitochondrial complex I pathology varies between schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *PLoS One* 2008;3:e3676.

Berk M, Copolov DL, Dean O, Lu K, Jeavons S, Shapkaitz I, Anderson-Hunt M, Bush AI. Antioxidant treatment of the glutathione deficiency in bipolar disorder with N-acetylcysteine: a double-blind randomised placebo controlled trial. *Bipolar Disorders* 2007;9:8-9.

Berk M, Copolov DL, Dean O, Lu K, Jeavons S, Schapkaitz I, Anderson-Hunt M, Bush AI. N-acetyl cysteine for depressive symptoms in bipolar disorder—a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Biol Psychiatry*. 2008;64(6):468-75.

Berk M, Dean OM, Cotton SM, Gama CS, Kapczinski F, Fernandes B, Kohlmann K, Jeavons S, Hewitt K, Moss K, Allwang C, Schapkaitz I, Cobb H, Bush AI, Dodd S, Malhi GS. Maintenance N-acetyl cysteine treatment for bipolar disorder: a double-blind randomized placebo controlled trial. *BMC Med* 2012;10:91.

Berk M, Kapczinski F, Andreazza AC, Dean OM, Giorlando F, Maes M, Yücel M, Gama CS, Dodd S, Dean B, Magalhães PV, Amminger P, McGorry P, Malhi GS.. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neurosci Biobehav Rev* 2011;35(3):804-17.

Berk M, Ng F, Dodd S, Goldberg JF, Malhi GS. Do we need to flick the switch? The need for a broader conceptualization of iatrogenic course aggravation in clinical trials of bipolar disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2010;64(4):367-71.

Bernardi P, Colonna R, Costantini P, Eriksson O, Fontaine E, Ichas F, Massari S, Nicolli A, Petronilli V, Scorrano L. The mitochondrial permeability transition. *Biofactors*. 1998;8(3-4):273-81.

Bertolino A, Frye M, Callicott JH, Mattay VS, Rakow R, Shelton-Repella J, Post R, Weinberger DR.. Neuronal pathology in the hippocampal area of patients with bipolar disorder: A study with proton magnetic resonance spectroscopic imaging. *Biol Psychiatry*. 2003;53(10):906-13.

Billups B, Forsythe ID. Presynaptic mitochondrial calcium sequestration influences transmission at mammalian central synapses. *J Neurosci*. 2002; 22(14): 5840-7.

Bjelland I, Tell GS, Vollset SE, Refsum H, Ueland PM. Folate, vitamin B12, homocysteine, and the MTHFR 677C->T polymorphism in anxiety and depression: the Hordaland Homocysteine Study. *Arch Gen Psychiatry*. 2003;60(6):618-26.

Bond DJ, Noronha MM, Kauer-Sant'Anna M, Lam RW, Yatham LN. Antidepressant-associated mood elevations in bipolar II disorder compared with bipolar I disorder and major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Psychiatry*. 2008;69(10):1589-601.

Bora E, Yucel M, Pantelis C. Cognitive endophenotypes of bipolar disorder: A meta-analysis of neuropsychological deficits in euthymic patients and their first-degree relatives. *J Affect Disord*. 2009;113(1-2):1-20.

Brandon MC, Lott MT, Nguyen KC, Spolim S, Navathe SB, Baldi P, Wallace DC. MITOMAP: a human mitochondrial genome database – 2004 update. *Nucleic Acids Res.* 2005;33;D611-3.

Brdiczka DG, Zorov DB, Sheu SS. Mitochondrial contact sites: their role in energy metabolism and apoptosis. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1762(2):148-63.

Brosnan ME, Edison EE, da Silva R, Brosnan JT. New insights into creatine function and synthesis. *Adv Enzyme Regul.* 2007;47:252-60.

Brown ES, Gabrielson B. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of citicoline for bipolar and unipolar depression and methamphetamine dependence. *J Affect Disord.* 2012;143(1-3):257-60.

Brown ES, Gorman AR, Hynan LS. A randomized, placebo-controlled trial of citicoline add-on therapy in outpatients with bipolar disorder and cocaine dependence. *J Clin Psychopharmacol.* 2007;27(5):498-502.

Brown NC, Andreatza AC, Young LT. An updated meta-analysis of oxidative stress markers in bipolar disorder. *Psychiatry Res.* 2014;218(1-2):61-8.

Buchsbaum MS, Wu J, DeLisi LE, Holcomb H, Kessler R, Johnson J, King AC, Hazlett E, Langston K, Post RM. Frontal cortex and basal ganglia metabolic rates assessed by positron emission tomography with [18F]2-deoxyglucose in affective illness. *J Affect Disord.* 1986;10(2):137-52.

Buford TW, Kreider RB, Stout JR, Greenwood M, Campbell B, Spano M, Ziegenfuss T, Lopez H, Landis J, Antonio J. International Society of Sports Nutrition position stand: creatine supplementation and exercise. *J Int Soc Sports.* 2007;4:6.

Buttner N, Bhattacharyya S, Walsh J, Benes FM. DNA fragmentation is increased in non-GABAergic neurons in bipolar disorder but not in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2007;93(1-3):33-41.

Cacilhas AA, Magalhães PV, Ceresér KM, Walz JC, Weyne F, Rosa AR, Vieta E, Kapczinski F. Validity of a short functioning test (FAST) in Brazilian outpatients with bipolar disorder. *Value Health*. 2009;12(4):624-7.

Calabrese J, Bowden C, Sachs G, Ascher JA, Monaghan E, Rudd GD.. A double-blind placebo-controlled study of lamotrigine monotherapy in outpatients with bipolar I depression. Lamictal 602 Study Group. *J Clin Psychiatry*. 1999;60(2):79-88.

Calabrese JR, Guelfi JD, Perdrizet-Chevallier C; Agomelatine Bipolar Study Group. Agomelatine adjunctive therapy for acute bipolar depression: preliminary open data. *Bipolar Disord*. 2007;9(6):628-35.

Calabrese JR, Keck PE, Jr., Macfadden W, Minkwitz M, Ketter TA, Weisler RH, Cutler AJ, McCoy R, Wilson E, Mullen J. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of quetiapine in the treatment of bipolar I or II depression. *Am J Psychiatry*. 2005;162(7):1351-60.

Caliyurt O, Altıay G. Resting energy expenditure in manic episode. *Bipolar Disord*. 2009;11(1):102-6.

Cannon JG, Orencole SF, Fielding RA, Meydani M, Meydani SN, Fiatarone MA, Blumberg JB, Evans WJ. Acute phase response in exercise: interaction of age and vitamin E on neutrophils and muscle enzyme release. *Am J Physiol*. 1990;259(6 Pt 2):R1214-9.

Carneiro AM, Fernandes F, Moreno RA. Hamilton depression rating scale and Montgomery–Asberg depression rating scale in depressed and bipolar I patients: psychometric properties in a Brazilian sample. *Health Qual Life Outcomes*. 2015;13:42.

Cecil KM, DelBello MP, Morey R, Strakowski SM. Frontal lobe differences in bipolar disorder as determined by proton MR spectroscopy. *Bipolar Disord*. 2002;4(6):357-65.

Chalmers S, Nicholls DG. The relationship between free and total calcium concentrations in the matrix of liver and brain mitochondria. *J Biol Chem*. 2003;278(21):19062-70.

Chalmers TC, Levin H, Sacks HS, Reitman D, Berrier J, Nagalingam R. Meta-analysis of clinical trials as a scientific discipline, I: control of bias and comparison with large co-operative trials. *Stat Med*. 1987;6(3):315-28.

Chandler WL, Fine JS, Emery M, Weaver D, Reichenbach D, Clayson KJ. Regional creatine kinase, adenylate kinase, and lactate dehydrogenase in normal canine brain. *Stroke*. 1988;19(2):251-5.

Chang K, Adleman N, Dienes K, Barnea-Goraly N, Reiss A, Ketter T. Decreased N-acetylaspartate in children with familial bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2003;53(11):1059-65.

Chen RW, Chuang DM. Long term lithium treatment suppresses p53 and Bax expression but increases Bcl-2 expression. A prominent role in neuroprotection against excitotoxicity. *J Biol Chem*. 1999;274(10):6039-42.

Chengappa KN, Levine J, Gershon S, Mallinger AG, Hardan A, Vagnucci A, Pollock B, Luther J, Battenfield J, Verfaillie S, Kupfer DJ. Inositol as an add-on treatment for bipolar depression. *Bipolar Disord.* 2000;2(1):47-55.

Clark J. N-Acetyl aspartate: a marker for neuronal loss or mitochondrial dysfunction. *Developmental Neuroscience.* 1998;20(4-5):271-6.

Clay HB, Sullivan S, Konradi C. Mitochondrial dysfunction and pathology in bipolar disorder and schizophrenia. *Int J Dev Neurosci.* 2011;29(3):311-24.

Cohen RM, Semple WE, Gross M, Nordahl TE, King AC, Pickar D, Post RM. Evidence for common alterations in cerebral glucose metabolism in major affective disorders and schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 1989;2(4): 241-54.

Coppen A, Chaudhry S, Swade C. Folic acid enhances lithium prophylaxis. *J Affect Disord.* 1986;10(1):9-13.

Coryell W, Scheftner W, Keller M, Endicott J, Maser J, Klerman GL. The enduring psychosocial consequences of mania and depression. *J Affect Disord.* 2009;114(1-3):58-67.

Crimson M, Argo T, Bendele S, Suppes T. Texas Medication Algorithm Project Procedural Manual: bipolar disorder algorithms. Austin, TX: The Texas Department of State Health Services; 2007.

Culmsee C, Mattson MP. p53 in neuronal apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;331(3):761-77.

Cunha MP, Pazini FL, Ludka FK, Rosa JM, Oliveira Á, Budni J, Ramos-Hryb AB, Lieberknecht V, Bettio LE, Martín-de-Saavedra MD, López MG, Tasca CI, Rodrigues AL. The modulation of NMDA receptors and L-arginine/nitric oxide pathway is implicated in the anti-immobility effect of creatine in the tail suspension test. *Amino Acids*. 2015;47(4):795-811.

Dean OM, Turner A, Malhi GS, Ng C, Cotton SM, Dodd S, Sarris J, Samuni Y, Tanious M, Dowling N, Waterdrinker A, Smith D, Berk M. Design and rationale of a 16-week adjunctive randomized placebo-controlled trial of mitochondrial agents for the treatment of bipolar depression. *Rev Bras Psiquiatr*. 2015;37(1):3-12.

Dechent P, Pouwels PJ, Wilken B, Hanefeld F, Frahm J. Increase of total creatine in human brain after oral supplementation of creatine-monohydrate. *Am J Physiol*. 1999;277(3 Pt 2):R698-704.

Dedeoglu A, Kubilus JK, Yang L, Ferrante KL, Hersch SM, Beal MF, Ferrante RJ. Creatine therapy provides neuroprotection after onset of clinical symptoms in Huntington's disease transgenic mice. *J Neurochem*. 2003;85(6):1359-67.

Deicken R, Pegues M, Anzalone S, Felwell R, Soher B. Lower concentration of hippocampal N-acetylaspartate in familial bipolar I disorder. *Am J Psychiatry*. 2003;160(5):873-82.

Deicken RF, Fein G, Weiner MW. Abnormal frontal lobe phosphorous metabolism in bipolar disorder. *Am J Psychiatry*. 1995;152(6):915-8.

Deldicque L, Decombaz J, Zbinden Foncea H, Vuichoud J, Poortmans JR, Francaux M. Kinetics of creatine ingested as a food ingredient. *Eur J Appl Physiol*. 2008;102(2):133-43.

Delvenne V, Delecluse F, Hubain PP, Schoutens A, De Maertelaer V, Mendlewicz J. Regional cerebral blood flow in patients with affective disorders. *Br J Psychiatry*. 1990;157:359-65.

Deminice R, Portari GV, Vannucchi H, Jordao AA. Effects of creatine supplementation on homocysteine levels and lipid peroxidation in rats. *Br J Nutr*. 2008;102(1):110-6.

Depp CA, Mausbach BT, Bowie C, Wolyniec P, Thornquist MH, Luke JR, McGrath JA, Pulver AE, Harvey PD, Patterson TL. Determinants of occupational and residential functioning in bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2012b;136(3):812-8.

Depp CA, Mausbach BT, Harmell AL, Savla GN, Bowie CR, Harvey PD, Patterson TL. Meta-analysis of the association between cognitive abilities and everyday functioning in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2012a; 14(3):217-26.

Di Lisa F, Bernardi P. Mitochondria and ischemia-reperfusion injury of the heart: fixing a hole. *Cardiovasc Res*. 2006;70(2):191-9.

Dimauro S. The many faces of mitochondrial diseases. *Mitochondrion*. 2004;4(5-6):799-807.

Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico sobre Alimentos para Atletas. Brasil. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2010.

Dolder M, Walzel B, Speer O, Schlattner U, Wallimann T. Inhibition of the mitochondrial permeability transition by creatine kinase substrates. Requirement for microcompartmentation. *J Biol Chem*. 2003;278(20):17760-6.

Drevets WC, Price JL, Simpson JR Jr, Todd RD, Reich T, Vannier M, Raichle ME. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature*. 1997;386(6627):824-7.

Dudley J, DelBello MP, Weber WA, Adler CM, Strakowski SM, Lee JH. Tissue-dependent cerebral energy metabolism in adolescents with bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2016;191:248-55.

Eden Evins A, Demopulos C, Yovel I, Culhane M, Ogutha J, Grandin LD, Nierenberg AA, Sachs GS. Inositol augmentation of lithium or valproate for bipolar depression. *Bipolar Disord*. 2006;8(2):168-74.

Edgar G, Shiver HE. The equilibrium between creatine and creatinine, in aqueous solution: the effect of hydrogen ion. *J Am Chem Soc*. 1925;47:1179-88.

Elkins G, Rajab MH, Marcus J. Complementary and alternative medicine use by psychiatric inpatients. *Psychol Rep*. 2005;96(1):163-6.

El-Mallakh RS, Ghaemi SN, Sagduyu K, Thase ME, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Zhang HW, Pardo TA, Sachs G; STEP-BD Investigators. Antidepressant-associated chronic irritable dysphoria (ACID) in STEP-BD patients. *J Affect Disord*. 2008;111(2-3):372-7.

Erecinska M, Silver IA. ATP and brain function. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1989;9(1):2-19.

European Food Safety Authority web site. Disponível em: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620761727.htm

Fava M. Implications of a biosignature study of the placebo response in major depressive disorder. *JAMA Psychiatry*. 2015;72(11):1073-4.

Fava M, Evins AE, Dorer DJ, Schoenfeld DA. The problem of the placebo response in clinical trials for psychiatric disorders: culprits, possible remedies, and a novel study design approach. *Psychother Psychosom*. 2003;72(3):115-27.

Febbraio MA, Flanagan TR, Snow RJ, Zhao S, Carey MF. Effect of creatine supplementation on intramuscular TCr, metabolism and performance during intermittent, supramaximal exercise in humans. *Acta Physiol Scand*. 1995;155(4):387-95.

Ferrante RJ, Andreassen OA, Jenkins BG, Dedeoglu A, Kuemmerle S, Kubilus JK, Kaddurah-Daouk R, Hersch SM, Beal MF. Neuroprotective effects of creatine in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci*. 2000;20(12):4389-9.

First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams Janet BW. Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Clinician Version (SCID-CV). Washington, D.C.: American Psychiatric Press; 1996.

Frangou S, Lewis M, McCrone P. Efficacy of ethyl-eicosapentaenoic acid in bipolar depression: randomised double-blind placebo-controlled study. *Br J Psychiatry*. 2006;188:46-50.

Frangou S, Lewis M, Wollard J, Simmons A. Preliminary in vivo evidence of increased N-acetyl-aspartate following eicosapentanoic acid treatment in patients with bipolar disorder. *J Psychopharmacol*. 2007;21(4):435-9.

Frey BN, Walss-Bass C, Stanley JA, Nery FG, Matsuo K, Nicoletti MA, Hatch JP, Bowden CL, Escamilla MA, Soares JC. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects prefrontal energy metabolism in bipolar disorder. *Neuroreport*. 2007;18(15):1567-70.

Frye M, Ketter T, Kimbrell T, Dunn RT, Speer AM, Osuch EA, Luckenbaugh DA, Cora-Ocatelli G, Leverich GS, Post RM. A placebo-controlled study of lamotrigine and gabapentin monotherapy in refractory mood disorders. *J Clin Psychopharmacol*. 2000;20(6):607-14.

Gahche J, Bailey R, Burt V, Hughes J, Yetley E, Dwyer J, Picciano MF, McDowell M, Sempos C. Dietary supplement use among U.S. adults has increased since NHANES III (1988–1994) Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics; 2011. *NCHS Data Brief*. 2011;61:1-8.

Gardner A, Boles RG. Beyond the serotonin hypothesis: mitochondria, inflammation and neurodegeneration in major depression and affective spectrum disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(3):730-43.

Gijssman HJ, Geddes JR, Rendell JM, Nolen WA, Goodwin GM. Antidepressants for bipolar depression: a systematic review of randomized, controlled trials. *Am J Psychiatry*. 2004;161(9):1537-47.

Glazner GW, Chan SL, Lu C, Mattson MP. Caspase-mediated degradation of AMPA receptor subunits: a mechanism for preventing excitotoxic necrosis and ensuring apoptosis. *J Neurosci*. 2000;20(10):3641-9.

Gledhill RF, van der Merwe CA, Greyling M, Van Niekerk MM. Race-gender differences in serum creatine kinase activity: a study among South Africans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988;51(2):301-4.

Goldberg JF, Brooks JO 3rd, Kurita K, Hoblyn JC, Ghaemi SN, Perlis RH, Miklowitz DJ, Ketter TA, Sachs GS, Thase ME. Depressive illness burden associated with complex polypharmacy in patients with bipolar disorder: findings from the STEP-BD. *J Clin Psychiatry*. 2009;70(2):155-62.

Goodwin GM, Martinez-Aran A, Glahn DC, Vieta E. Cognitive impairment in bipolar disorder: neurodevelopment or neurodegeneration? An ECNP expert meeting report. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008;18(11):787-93.

Gordon A, Hultman E, Kijser L, Kristjansson S, Rolf CJ, Nyquist O, Sylvén C. Creatine supplementation in chronic heart failure increases skeletal muscle creatine phosphate and muscle performance. *Cardiovasc Res*. 1995;30(3):413-8.

Graham AS, Hatton RC. Creatine: a review of efficacy and safety. *J Am Pharm Assoc*. 1999;39(6):803-10.

Green AL, Simpson EJ, Littlewood JJ, Macdonald IA, Greenhaff PL. Carbohydrate ingestion augments creatine retention during creatine feeding in humans. *Acta Physiol Scand*. 1996;158(2):195-202.

Greenhaff PL, Bodin K, Soderlund K, Hultman E. Effect of oral creatine supplementation on skeletal muscle phosphocreatine resynthesis. *Am J Physiol*. 1994;266(5 Pt 1):E725-30.

Greenhaff PL, Casey A, Short AH, Harris R, Soderlund K, Hultman E. Influence of oral creatine supplementation of muscle torque during repeated bouts of maximal voluntary exercise in man. *Clin Sci (Lond)*. 1993;84(5):565-71.

Grivennikova VG, Vinogradov AD. Generation of superoxide by the mitochondrial complex I. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1757(5-6):553-61.

Groeneveld GJ, Veldink JH, van der Tweel I, Kalmijn S, Beijer C, de Visser M, Wokke JH, Franssen H, van den Berg LH. A randomized sequential trial of creatine in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 2003;53(4):437-45.

Gualano B, Ferreira DC, Sapienza MT, Seguro AC, Lancha AH Jr. Effect of short-term high-dose creatine supplementation on measured GFR in a young man with a single kidney. *Am J Kidney Dis*. 2010;55(3):e7-9.

Gualano B, Ugrinowitsch C, Novaes RB, Artioli GG, Shimizu MH, Seguro AC, Harris RC, Lancha AH Jr. Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Eur J Appl Physiol*. 2008;103(1):33-40.

Guerrero ML, Beron J, Spindler B, Groscurth P, Wallimann T, Verrey F. Metabolic support of Na⁺ pump in apically permeabilized A6 kidney cell epithelia: role of creatine kinase. *Am J Physiol*. 1997;272(2 Pt 1):C697-706.

Guimbal C, Kilimann MW. A Na⁽⁺⁾-dependent creatine transporter in rabbit brain, muscle, heart, and kidney. cDNA cloning and functional expression. *J Biol Chem*. 1993;268(12):8418-21.

Guy W. (Ed.). Clinical Global Impressions. In: ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, revised. Rockville, MD: National Institute of Mental Health; 1976.

Hamakawa H, Kato T, Murashita J, Kato N. Quantitative proton magnetic resonance spectroscopy of the basal ganglia in patients with affective disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1998;248(1):53-8.

Hamakawa H, Murashita J, Yamada N, Inubushi T, Kato N, Kato T. Reduced intracellular pH in the basal ganglia and whole brain measured by ³¹P-MRS in bipolar disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2004;58(1):82-8.

Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br J Soc Clin Psychol*. 1967; 6(4):278-96.

Hammett ST, Wall MB, Edwards TC, Smith AT. Dietary supplementation of creatine monohydrate reduces the human fMRI BOLD signal. *Neurosci Lett*. 2010;479(3):201-5.

Harris RC, Söderlund K, Hultman E. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. *Clin Sci (Lond)*. 1992;83(3):367-74.

Hatano E, Tanaka A, Iwata S, Satoh S, Kitai T, Tsunekawa S, Inomoto T, Shinohara H, Chance B, Yamaoka Y. Induction of endotoxin tolerance in transgenic mouse liver expressing creatine kinase. *Hepatology*. 1996;24(3):663-9.

Hatano E, Tanaka A, Kanazawa A, Tsuyuki S, Tsunekawa S, Iwata S, Takahashi R, Chance B, Yamaoka Y. Inhibition of tumor necrosis factor-induced apoptosis in transgenic mouse liver expressing creatine kinase. *Liver Int.* 2004;24(4):384-93.

Heaton RK. *Wisconsin Card Sorting Test Manual*. Odessa, Florida: Psychological Assessment Resources; 1981.

Howard AN, Harris RC. Compositions containing creatine. US Patent; 1999.

Hultman E, Soderlund K, Timmons JA, Cederblad G, Greenhaff PL. Muscle creatine loading men. *J Appl Physiol.* 1996;81(1):232-7.

Inuwa IM, Peet M, Williams MA. QSAR modeling and transmission electron microscopy stereology of altered mitochondrial ultrastructure of white blood cells in patients diagnosed as schizophrenic and treated with antipsychotic drugs. *Biotech Histochem.* 2005;80(3-4):133-7.

Iosifescu DV, Bolo NR, Nierenberg AA, Jensen JE, Fava M, Renshaw PF. Brain bioenergetics and response to triiodothyronine augmentation in major depressive disorder. *Biol Psychiatry.* 2008;63(12):1127-34.

Iovieno N, Nierenberg AA, Parkin SR, Hyung Kim DJ, Walker RS, Fava M, Papakostas GI. Relationship between placebo response rate and clinical trial outcome in bipolar depression. *J Psychiatr Res.* 2016;74:38-44.

Iyengar MR. Creatine kinase as an intracellular regulator. *J Muscle Res Cell Motil.* 1984;5(5):527-34.

Jäger R. *The use of creatine monohydrate in sports nutrition*. Freising, Germany: Degussa Bioactives Publication; 2003.

Jager R, Purpura M, Shao A, Inoue T, Kreider RB. Analysis of the efficacy, safety, and regulatory status of novel forms of creatine. *Amino Acids*. 2011; 40(5):1369-83.

Judd LL, Akiskal HS, Schettler PJ, Endicott J, Maser J, Solomon DA, Leon AC, Rice JA, Keller MB. The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 2002; 59(6):530-7.

Judd LL, Schettler PJ, Akiskal HS, Coryell W, Leon AC, Maser JD, Solomon DA. Residual symptom recovery from major affective episodes in bipolar disorders and rapid episode relapse/recurrence. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(4):386-94.

Judd LL, Schettler PJ, Akiskal HS, Maser J, Coryell W, Solomon D, Endicott J, Keller M. Long-term symptomatic status of bipolar I vs. bipolar II disorders. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2003;6(2):127-37.

Juhn MS, Tarnopolsky M. Oral creatine supplementation and athletic performance: A critical review. *Clin J Sport Med*. 1998a;8(4):286-97.

Juhn MS, Tarnopolsky M. Potential side effects of oral creatine supplementation: A critical review. *Clin J Sport Med*. 1998b;8(4):298-304.

Kamber M, Koster M, Kreis R, Walker G, Boesch C, Hoppeler H. Creatine supplementation—part I: Performance, clinical chemistry, and muscle volume. *Med Sci Sports Exerc*. 1999;31(12):1763-9.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neural Sciences*. 4th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2000.

Kapczinski F, Frey BN, Andreazza AC, Kauer-Sant'Anna M, Cunha AB, Post RM. Increased oxidative stress as a mechanism for decreased BDNF levels in acute manic episodes. *Rev Bras Psiquiatr.* 2008a;30(3):243-5.

Kapczinski F, Vieta E, Andreazza AC, Frey BN, Gomes FA, Tramontina J, Kauer-Sant'anna M, Grassi-Oliveira R, Post RM. Allostatic load in bipolar disorder: Implications for pathophysiology and treatment. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008b;32(4):675-92.

Kaplan BJ, Simpson JS, Ferre RC, Gorman CP, McMullen DM, Crawford SG. Effective mood stabilization with a chelated mineral supplement: an open-label trial in bipolar disorder. *J Clin Psychiatry.* 2001;62(12):936-44.

Kaptsan A, Odessky A, Osher Y, Levine J. Lack of efficacy of 5 grams daily of creatine in schizophrenia: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Psychiatry.* 2007;68(6):881-4.

Karlsson J, Ungell A, Grasjo J, Artursson P. Paracellular drug transport across intestinal epithelia: Influence of charge and induced water flux. *Eur J Pharm Sci.* 1999;9(1):47-56.

Karry R, Klein E, Ben Shachar D. Mitochondrial complex I subunits expression is altered in schizophrenia: a postmortem study. *Biol Psychiatry.* 2004;55(7):676-84.

Kato T, Inubushi T, Kato N. Prediction of lithium response by ³¹P-MRS in bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2000;3(1):83-5.

Kato T, Ishiwata M, Mori K, Washizuka S, Tajima O, Akiyama T, Kato N. Mechanisms of altered Ca²⁺ signalling in transformed lymphoblastoid cells from patients with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2003;6(4):379-89.

Kato T, Kato N. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2000a;2(3 Pt 1):180-90.

Kato T, Kunugi H, Nanko S, Kato N. Association of bipolar disorder with the 5178 polymorphism in mitochondrial DNA. *Am J Med. Genet*. 2000b;96(2):182-6.

Kato T, Murashita J, Kamiya A, Shioiri T, Kato N, Inubushi T. Decreased brain intracellular pH measured by ³¹P-MRS in bipolar disorder: a confirmation in drug-free patients and correlation with white matter hyperintensity. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 1998;248(6):301-6.

Kato T, Shioiri T, Murashita J, Hamakawa H, Inubushi T, Takahashi S. Phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy and ventricular enlargement in bipolar disorder. *Psychiatry Res*. 1994a;55(1):41-50.

Kato T, Shioiri T, Murashita J, Hamakawa H, Takahashi Y, Inubushi T, Takahashi S. Lateralized abnormality of high energy phosphate metabolism in the frontal lobes of patients with bipolar disorder detected by phase-encoded ³¹P-MRS. *Psychol Med*. 1995;25(3):557-66.

Kato T, Takahashi S, Shioiri T, Inubushi T. Alterations in brain phosphorous metabolism in bipolar disorder detected by in vivo ³¹P and ⁷Li magnetic resonance spectroscopy. *J Affect Disord*. 1993;27(1):53-9.

Kato T, Takahashi S, Shioiri T, Inubushi T. Brain phosphorous metabolism in depressive disorders detected by phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy. *J Affect Disord.* 1992;26(4):223-30.

Kato T, Takahashi S, Shioiri T, Murashita J, Hamakawa H, Inubushi T. Reduction of brain phosphocreatine in bipolar II disorder detected by phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy. *J Affect Disord.* 1994b; 31(2):125-33.

Kay DS, Naylor GJ, Smith AH, Greenwood C. The therapeutic effect of ascorbic acid and EDTA in manic-depressive psychosis: double-blind comparisons with standard treatments. *Psychol Med.* 1984;14(3):533-9.

Kay L, Nicolay K, Wieringa B, Saks V, Wallimann T. Direct evidence for the control of mitochondrial respiration by mitochondrial creatine kinase in oxidative muscle cells in situ. *J Biol Chem.* 2000;275(10):6937-44.

Kazuno AA, Munakata K, Kato N, Kato T. Mitochondrial DNA-dependent effects of valproate on mitochondrial calcium levels in transmitochondrial cybrids. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008;11(1):71-8.

Kazuno AA, Munakata K, Nagai T, Shimozone S, Tanaka M, M. Yoneda M, N. Kato N, A. Miyawaki A, T. Kato T. Identification of mitochondrial DNA polymorphisms that alter mitochondrial matrix pH and intracellular calcium dynamics. *PLoS Genet.* 2006;2(8):e128.

Keck PE, Jr., Mintz J, McElroy SL, Freeman MP, Suppes T, Frye MA, Altshuler LL, Kupka R, Nolen WA, Leverich GS, Denicoff KD, Grunze H, Duan N, Post RM. Double-blind, randomized, placebo-controlled trials of ethyl-eicosapentanoate in the treatment of bipolar depression and rapid cycling bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2006;60(9):1020-2.

Kessler U, Schoeyen HK, Andreassen OA, Eide GE, Hammar Å, Malt UF, Oedegaard KJ, Morken G, Sundet K, Vaaler AE. Neurocognitive profiles in treatment-resistant bipolar I and bipolar II disorder depression. *BMC Psychiatry*. 2013;13:105.

Ketter TA, Kimbrell TA, George MS, Dunn RT, Speer AM, Benson BE, Willis MW, Danielson A, Frye MA, Herscovitch P, Post RM. Effects of mood and subtype on cerebral glucose metabolism in treatment-resistant bipolar disorder. *Biol Psychiatry*. 2001;49(2):97-109.

Kim HJ, Kim CK, Carpentier A, Poortmans JR. Studies on the safety of creatine supplementation. *Amino Acids*. 2011;40(5):1409-18.

King TD, Bijur GN, Jope RS. Caspase-3 activation induced by inhibition of mitochondrial complex I is facilitated by glycogen synthase kinase-3beta and attenuated by lithium. *Brain Res*. 2001;919(1):106-14.

Klivenyi P, Calingasan NY, Starkov A, Stavrovskaya IG, Kristal BS, Yang L, Wieringa B, Beal MF. Neuroprotective mechanisms of creatine occur in the absence of mitochondrial creatine kinase. *Neurobiol Dis*. 2004;15(3):610-7.

Klivenyi P, Ferrante RJ, Matthews RT, Bogdanov MB, Klein AM, Andreassen OA, Mueller G, Wermer M, Kaddurah-Daouk R, Beal MF. Neuroprotective effects of creatine in a transgenic animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Medicine*. 1999;5(3):347-50.

Knaudt PR, Connor KM, Weisler RH, Churchill LE, Davidson JR. Alternative therapy use by psychiatric outpatients. *J Nerv Ment Dis*. 1999;187(11):692-5.

Kondo DG, Sung Y, Hellem TL, Fiedler KK, Shi X, Jeong E, Renshaw PF. Open-label adjunctive creatine for female adolescents with SSRI-resistant major depressive disorder: A 31-phosphorus magnetic resonance spectroscopy study. *J Affect Disord.* 2011;135(10):354-61.

Kondo DG, Forrest LN, Shi X, Sung YH, Hellem TL, Huber RS, Renshaw PF. Creatine target engagement with brain bioenergetics: a dose-ranging phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy study of adolescent females with SSRI-resistant depression. *Amino Acids.* 2016 Feb 23.

Konradi C, Eaton M, MacDonald ML, Walsh J, Benes FM, Heckers S. Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry.* 2004;61(3):300-8.

Korzun WJ. Oral creatine supplements lower plasma homocysteine concentrations in humans. *Clin Lab Sci.* 2004;17(2):102-6.

Koshy KM, Griswold E, Schneeberger EE. Interstitial nephritis in a patient taking creatine [letter]. *N Engl J Med.* 1999;340(10):814-5.

Koufen P, Ruck A, Brdiczka D, Wendt S, Wallimann T, Stark G. Free radical-induced inactivation of creatine kinase: influence on the octameric and dimeric states of the mitochondrial enzyme (Mib-CK). *Biochem J.* 1999;344 Pt 2:413-7.

Koukopoulos A, Sani G, Koukopoulos AE, Manfredi G, Pacchiarotti I, Girardi P. Melancholia agitata and mixed depression. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2007;(433):50-7.

Kreider RB, Wilborn CD, Taylor L, Campbell B, Almada AL, Collins R, Cooke M, Earnest CP, Greenwood M, Kalman DS, Kerksick CM, Kleiner SM, Leutholtz B, Lopez H, Lowery LM, Mendel R, Smith A, Spano M, Wildman R, Willoughby DS, Ziegenfuss TN, Antonio J. ISSN exercise and sport nutrition review: research and recommendations. *J Int Soc Sports Nutr.* 2010;7:7.

Kuloglu M, Ustundag B, Atmaca M, Tezcan AE, Cinkilink N. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in patients with schizophrenia and bipolar disorder. *Cell Biochem Funct.* 2002;20(2):171-5.

Kunz M, Gama CS, Andreazza AC, Salvador M, Ceresér KM, Gomes FA, Belmonte-de-Abreu PS, Berk M, Kapczinski F. Elevated serum superoxide dismutase and thiobarbituric acid reactive substances in different phases of bipolar disorder and in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008;32(7):1677-81.

Kurtz MM, Gerraty RT. A meta-analytic investigation of neurocognitive deficits in bipolar illness: profile and effects of clinical state. *Neuropsychology.* 2009;23(5):551-62.

Lafer B, Renshaw PF, Sachs G, Christensen JD, Yurgelun-Todd D, Stoll AL, Rosenbaum JF, Cohen BM. Proton MRS of the basal ganglia in bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 1994;35(9):685.

Lafer B, Nery FG. Tratamento da depressão bipolar. *Revista Debates em Psiquiatria.* 2011;5:14-20.

Lajolo FM, Miyazaki E. Functional foods legislation in Brazil. In: Losso JN, Shahidi F, Bagchi D (eds) *Anti angiogenic functional and medicinal foods.* Oakville: CRC Press; 2007.

Lariviere D. Nutritional supplements flexing muscles as growth industry. Forbes. 4/18/2013. Disponível em: <http://www.forbes.com/sites/davidlariviere/2013/04/18/nutritional-supplements-flexing-their-muscles-as-growth-industry/>

Lawler JM, Barnes WS, Wu G, Song W, Demaree S. Direct antioxidant properties of creatine. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;290(1):47-52.

Lee HC, Wei YH. Mitochondrial biogenesis and mitochondrial DNA maintenance of mammalian cells under oxidative stress. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005;37(4):822-34.

Leucht S, Davis JM, Engel RR, Kane JM, Wagenpfeil S. Defining 'response' in antipsychotic drug trials: recommendations for the use of scale-derived cutoffs. *Neuropsychopharmacology.* 2007;32(9):1903-10.

Leverich GS, Altshuler LL, Frye MA, Suppes T, McElroy SL, Keck PE, Jr., Kupka RW, Denicoff KD, Nolen WA, Grunze H, Martinez MI, Post RM. Risk of switch in mood polarity to hypomania or mania in patients with bipolar depression during acute and continuation trials of venlafaxine, sertraline, and bupropion as adjuncts to mood stabilizers. *Am J Psychiatry.* 2006; 163(2):232-9.

Li H, Thali RF, Smolak C, Gong F, Alzamora R, Wallimann T, Scholz R, Pastor-Soler NM, Neumann D, Hallows KR. Regulation of the creatine transporter by AMP-activated protein kinase in kidney epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;299(1):F167-77.

Li J, Norwood DL, Mao LF, Schulz H. Mitochondrial metabolism of valproic acid. *Biochemistry.* 1991;30(2):388-94.

Ling J, Kritikos M, Tiplady B. Cognitive effects of creatine ethyl ester supplementation. *Behav Pharmacol*. 2009;20(8):673-9.

Lobley GE, Connell A, Revell D. The importance of transmethylation reactions to methionine metabolism in sheep: effects of supplementation with creatine and choline. *Br J Nutr*. 1996;75(1):47-56.

Lowe MT, Faull RL, Christie DL, Waldvogel HJ. Distribution of the creatine transporter throughout the human brain reveals a spectrum of creatine transporter immunoreactivity. *J Comp Neurol*. 2015;523(5):699-725.

Lyoo IK, Demopoulos CM, Hirashima F, Ahn KH, Renshaw PF. Oral choline decreases brain purine levels in lithium-treated subjects with rapid-cycling bipolar disorder: a double-blind trial using proton and lithium magnetic resonance spectroscopy. *Bipolar Disord*. 2003;5(4):300-6.

Lyoo IK, Kong SW, Sung SM, Hirashima F, Parow A, Hennen J, Cohen BM, Renshaw PF. Multinuclear magnetic resonance spectroscopy of high-energy phosphate metabolites in human brain following oral supplementation of creatine-monohydrate. *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2003;123(2):87-100.

Lyoo IK, Yoon S, Kim TS, Hwang J, Kim JE, Won W, Bae S, Renshaw PF. A randomized, double-blind placebo-controlled trial of oral creatine monohydrate augmentation for enhanced response to a selective serotonin reuptake inhibitor in women with major depressive disorder. *Am J Psychiatry*. 2012;169(9):937-45.

MacDonald ML, Naydenov A, Chu M, Matzilevich D, Konradi C. Decrease in creatine kinase messenger RNA expression in the hippocampus and dorsolateral prefrontal cortex in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2006;8(3):255-64.

Machado-Vieira R, Andreazza AC, Viale CI, Zanatto V, Cereser V, Jr., da Silva Vargas R, Kapczinski F, Portela LV, Souza DO, Salvador M, Gentil V. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci Lett*. 2007;421(1):33-6.

Machado-Vieira R, Zarate CA Jr. Proof of concept trials in bipolar disorder and major depressive disorder: a translational perspective in the search for improved treatments. *Depress Anxiety*. 2011;28(4):267-81.

Madhavarao CN, Chinopoulos C, Chandrasekaran K, Namboodiri MA. Characterization of the N-acetylaspartate biosynthetic enzyme from rat brain. *J Neurochem*. 2003;86(4):824-35.

Mak C, Waldvogel H, Dodd J, Gilbert RT, Lowe MT, Birch NP, Faull RL, Christie DL. Immunohistochemical localisation of the creatine transporter in the rat brain. *Neuroscience*. 2009;163(2):571-85.

Maker HS, Lehrer GM, Silides DJ, Weiss C. Regional changes in cerebellar creatine phosphate metabolism during late maturation. *Exp Neur*. 1973;38(2):295-300.

Malcon C, Kaddurah-Daouk R, Beal M. Neuroprotective effects of creatine administration against NMDA and malonate toxicity. *Brain Res*. 2000;860(1-2):195-8.

Manji H, Moore G, Chen G. Clinical and preclinical evidence for the neurotrophic effects of mood stabilizers: Implications for the pathophysiology and treatment of manic-depressive illness. *Biol Psychiatry*. 2000;48(8):740-54.

Manji H, Kato T, Di Prospero NA, Ness S, Beal MF, Krams M, Chen G. Impaired mitochondrial function in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2012;13(5):293-307.

Manos P1, Bryan GK, Edmond J. Creatine kinase activity in postnatal rat brain development and in cultured neurons, astrocytes, and oligodendrocytes. *J Neurochem*. 1991;56(6):2101-7.

Marangell LB, Dennehy EB, Miyahara S, Wisniewski SR, Bauer MS, Rapaport MH, Allen MH.. The functional impact of subsyndromal depressive symptoms in bipolar disorder: data from STEP-BD. *J Affect Disord*. 2009;114(1-3):58-67.

Matthews RT, Ferrante RJ, Klivenyi P, Yang L, Klein AM, Mueller G, Kaddurah-Daouk R, Beal MF. Creatine and cyclocreatine attenuate MPTP neurotoxicity. *Exp Neurol*. 1999;157(1):142-9.

Matthews RT, Yang L, Jenkins BG, Ferrante RJ, Rosen BR, Kaddurah-Daouk R, Beal MF. Neuroprotective effects of creatine and cyclocreatine in animal models of Huntington's disease. *J Neurosci*. 1998;18(1):156-63.

Matthews SC, Camacho A, Lawson K, Dimsdale JE. Use of herbal medications among 200 psychiatric outpatients: prevalence, patterns of use, and potential dangers. *Gen Hosp Psychiatry*. 2003;25(1):24-6.

Mattson MP, Liu D. Mitochondrial potassium channels and uncoupling proteins in synaptic plasticity and neuronal cell death. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;304(3):539-49.

Maurer IC, Schippel P, Volz HP. Lithium-induced enhancement of mitochondrial oxidative phosphorylation in human brain tissue. *Bipolar Disord.* 2009;11(5):515-22.

McElroy SL, Weisler RH, Chang W, Olausson B, Paulsson B, Brecher M, Agambaram V, Merideth C, Nordenhem A, Young AH; EMBOLDEN II (Trial D1447C00134) Investigators. A double-blind, placebo-controlled study of quetiapine and paroxetine as monotherapy in adults with bipolar depression (EMBOLDEN II). *J Clin Psychiatry.* 2010;71(2):163-74.

McMorris T, Harris RC, Swain J, Corbett J, Collard K, Dyson RJ, Dye L, Hodgson C, Draper N. Effect of creatine supplementation and sleep deprivation, with mild exercise, on cognitive and psychomotor performance, mood state, and plasma concentrations of catecholamines and cortisol. *Psychopharmacology.* 2006;185(1):93-103.

Merikangas KR, Akiskal HS, Angst J, Greenberg PE, Hirschfeld RM, Petukhova M, Kessler RC. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar Spectrum disorder in the National Comorbidity Survey replication. *Arch Gen Psychiatry.* 2007;64(5):543-52.

Meyer LE, Machado LB, Santiago AP, da-Silva WS, De Felice FG, Holub O, Oliveira MF, Galina A. Mitochondrial creatine kinase activity prevents reactive oxygen species generation: antioxidant role of mitochondrial kinases-dependent ADP re-cycling activity. *J Biol Chem.* 2006;281(49):37361-71.

Michaelis M, Suhan T, Michaelis UR, Beek K, Rothweiler F, Tausch L, Werz O, Eikel D, Zornig M, Nau H, Fleming I, Doerr HW, Cinatl Jr J. Valproic acid induces extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation and inhibits apoptosis in endothelial cells. *Cell Death Differ.* 2006;13(3):446-53.

Middleton FA, Mirnics K, Pierri JN, Lewis DA, Levitt P. Gene expression profiling reveals alterations of specific metabolic pathways in schizophrenia. *J Neurosci*. 2002;22(7):2718-29.

Mihic S, MacDonald JR, McKenzie S, Tarnopolsky MA. Acute creatine loading increases fat-free mass, but does not affect blood pressure, plasma creatinine, or CK activity in men and women. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32(2):291-6.

Miller K, Halow J, Koretsky AP. Phosphocreatine protects transgenic mouse liver expressing creatine kinase from hypoxia and ischemia. *Am J Physiol*. 1993;265(6 Pt 1):C1544-51.

Mischoulon D. Update and critique of natural remedies as antidepressant treatments. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2009;36(4):789-807.

Montgomery SA, Åsberg M. A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry*. 1979;134(4):382-9.

Moore CM, Breeze JL, Gruber SA, Babb SM, Frederick BB, Villafuerte RA, Stoll AL, Hennen J, Yurgelun-Todd DA, Cohen BM, Renshaw PF. Choline, myo-inositol and mood in bipolar disorder: A proton magnetic resonance spectroscopic imaging study of the anterior cingulate cortex. *Bipolar Disord*. 2000;2(3 Pt 2):207-16.

Mudd SH, Poole JR. Labile methyl balances for normal humans on various dietary regimens. *Metabolism*. 1975;24(6):721-35.

Müller D, de Luca V, Sicard T, King N, Strauss J, Kennedy JL. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and rapid-cycling bipolar disorder: Family-based association study. *Br J Psychiatry*. 2006;189:317-23.

Munakata K, Tanaka M, Mori K, Washizuka S, Yoneda M, Tajima O, Akiyama T, Nanko S, Kunugi H, Tadokoro K, Ozaki N, Inada T, Sakamoto K, Fukunaga T, Iijima Y, Iwata N, Tatsumi M, Yamada K, Yoshikawa T, Kato T. Mitochondrial DNA 3644T→C mutation associated with bipolar disorder. *Genomics*. 2004;84(6):1041-50.

Muntjewerff JW, Kahn RS, Blom HJ, den Heijer M. Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase and risk of schizophrenia: a meta-analysis. *Mol Psychiatry*. 2006;11(2):143-9.

Muralidharan K, Torres IJ, Silveira LE, Kozicky JM, Bücker J, Fernando N, Yatham LN. Impact of depressive episodes on cognitive deficits in early bipolar disorder: data from the Systematic Treatment Optimization Programme for Early Mania (STOP-EM). *Br J Psychiatry*. 2014;205(1):36-43.

Murphy A, Bredesen D, Cortopassi G, Wang E, Fiskum G.. Bcl-2 potentiates the maximal calcium uptake capacity of neural cell mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(18):9893-8.

Murphy BL, Stoll AL, Harris PQ, Ravichandran C, Babb SM, Carlezon WA Jr, Cohen BM. Omega-3 fatty acid treatment, with or without cytidine, fails to show therapeutic properties in bipolar disorder: a double-blind, randomized add-on clinical trial. *J Clin Psychopharmacol*. 2012;32(5):699-703.

Nash SR, Giros B, Kingsmore SF, Rochelle JM, Suter ST, Gregor P, Seldin MF, Caron MG. Cloning, pharmacological characterization, and genomic localization of the human creatine transporter. *Receptors Channels*. 1994;2(2):165-74.

Naydenov AV, MacDonald ML, Ongur D, Konradi C. Differences in lymphocyte electron transport gene expression levels between subjects with bipolar disorder and normal controls in response to glucose deprivation stress. *Arch Genl Psychiatry*. 2007;64(5):555-64.

Naylor GJ, Smith AH. Vanadium: a possible aetiological factor in manic depressive illness. *Psychol Med*. 1981;11(2):249-56.

Nemeroff CB, Evans DL, Gyulai L, Sachs GS, Bowden CL, Gergel IP, Oakes R, Pitts CD. Double-blind, placebo-controlled comparison of imipramine and paroxetine in the treatment of bipolar depression. *Am J Psychiatry*. 2001;158(6):906-12.

Ng F, Berk M, Dean O, Busch AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: Evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008;11(6):851-76.

Nierenberg AA, Ostacher MJ, Calabrese JR, Ketter TA, Marangell LB, Miklowitz DJ, Miyahara S, Bauer MS, Thase ME, Wisniewski SR, Sachs GS. Treatment-resistant bipolar depression: a STEP-BD equipoise randomized effectiveness trial of antidepressant augmentation with lamotrigine, inositol, or risperidone. *Am J Psychiatry*. 2006;163(2):210-6.

NIH (National Institutes of Health). Dietary supplements: what you need to know, 2011. Disponível em: https://ods.od.nih.gov/pubs/ds_whatyouneedtoknow.pdf

NINDS NET-PD Investigators. A randomized, double-blind, futility clinical trial of creatine and minocycline in early Parkinson disease. *Neurology*. 2006;66(5):664-71.

Nortje G, Stein DJ, Radua J, Mataix-Cols D, Horn N. Systematic review and voxel-based meta-analysis of diffusion tensor imaging studies in bipolar disorder. *J Affect Disord.* 2013;150(2):192-200.

Novick, DM., Swartz, HA, Frank, E. Suicide attempts in bipolar I and bipolar II disorder: a review and meta-analysis of the evidence. *Bipolar Disord.* 2010; 12(1):1-9.

O'Gorman E, Beutner G, Dolder M, Koretsky AP, Brdiczka D, Wallimann T. The role of creatine kinase inhibition of mitochondrial permeability transition. *FEBS Lett.* 1997;414(2):253-7.

Ohtsuki S, Tachikawa M, Takanaga H, Shimizu H, Watanabe M, Hosoya K, Terasaki T. The blood-brain barrier creatine transporter is a major pathway for supplying creatine to the brain. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2002;22(11): 1327-35.

Oliveira MS, Furian AF, Figuera MR, Fiorenza NG, Ferreira J, Rubin MA, Mello CF, Royes LF. The involvement of the polyamines binding sites at the NMDA receptor in creatine-induced spatial learning enhancement. *Behav Brain Res.* 2008;187(1):200-4.

Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4(7):552-65.

Orsenigo M, Faelli A, De Biasi S, Sironi C, Laforenza U, Paulmichl M, Tosco M. Jejunal creatine absorption: what is the role of the basolateral membrane? *J Membr Biol.* 2005;207(3):183-95.

Ösby U, Brandt L, Correia N, Ekblom A, Sparén P. Excess mortality in bipolar and unipolar disorder in Sweden. *Arch Gen Psychiatry.* 2001;58(9):844-50.

Pacchiarotti I, Bond DJ, Baldessarini RJ, Nolen WA, Grunze H, Licht RW, Post RM, Berk M, Goodwin GM, Sachs GS, Tondo L, Findling RL, Youngstrom EA, Tohen M, Undurraga J, González-Pinto A, Goldberg JF, Yildiz A, Altshuler LL, Calabrese JR, Mitchell PB, Thase ME, Koukopoulos A, Colom F, Frye MA, Malhi GS, Fountoulakis KN, Vázquez G, Perlis RH, Ketter TA, Cassidy F, Akiskal H, Azorin JM, Valentí M, Mazzei DH, Lafer B, Kato T, Mazzarini L, Martínez-Aran A, Parker G, Souery D, Ozerdem A, McElroy SL, Girardi P, Bauer M, Yatham LN, Zarate CA, Nierenberg AA, Birmaher B, Kanba S, El-Mallakh RS, Serretti A, Rihmer Z, Young AH, Kotzalidis GD, MacQueen GM, Bowden CL, Ghaemi SN, Lopez-Jaramillo C, Rybakowski J, Ha K, Perugi G, Kasper S, Amsterdam JD, Hirschfeld RM, Kapczinski F, Vieta E. The International Society for Bipolar Disorders (ISBD) task force report on antidepressant use in bipolar disorders. *Am J Psychiatry*. 2013; 170(11):1249-62.

Parker G, Tully L, Olley A, Hadzi-Pavlovic D. SSRIs as mood stabilizers for Bipolar II Disorder? A proof of concept study. *J Affect Disord*. 2006;92(2-3):205-14.

Peet M. Induction of mania with selective serotonin re-uptake inhibitors and tricyclic antidepressants. *Br J Psychiatry*. 1994;164(4):549-50.

Perera R, Heneghan C, Badenoch D. *Statistics Toolkit*. Oxford: Blackwell-BMJ Books, 2008.

Persky AM, Brazeau GA: Clinical pharmacology of the dietary supplement creatine monohydrate. *Pharmacol Rev*. 2001;53(2):161-76.

Peters A, Schweiger U, Pellerin L, Hubold C, Oltmanns KM, Conrad M, Schultes B, Born J, Fehm HL. The selfish brain: competition for energy resources. *Neurosci Biobehav Rev*. 2004;28(2):143-80.

Pitts RF. The clearance of creatine in dog and man. *Am J Physiol.* 1934; 109:532-41.

Poortmans JR, Auquier H, Renaut V, Durussel A, Saugy M, Brisson GR. Effect of short-term creatine supplementation on renal responses in men. *Eur J Appl Physiol.* 1997;76(6):566-7.

Poortmans JR, Francaux M. Adverse effects of creatine supplementation: fact or fiction? *Sports Med.* 2000;30(3):155-70.

Post RM, Altshuler LL, Frye MA, Suppes T, Keck PE Jr, McElroy SL, Leverich GS, Luckenbaugh DA, Rowe M, Pizzarello S, Kupka RW, Grunze H, Nolen WA. Complexity of pharmacologic treatment required for sustained improvement in outpatients with bipolar disorder. *J Clin Psychiatry.* 2010;71(9):1176-86.

Post RM, Altshuler LL, Leverich GS, Frye MA, Nolen WA, Kupka RW, Suppes T, McElroy S, Keck PE, Denicoff KD, Grunze H, Walden J, Kitchen CM, Mintz J. Mood switch in bipolar depression: comparison of adjunctive venlafaxine, bupropion and sertraline. *Br J Psychiatry.* 2006;189:124-31.

Pritchard NR, Kalra PA. Renal dysfunction accompanying oral creatine supplements. *Lancet.* 1998;352(9111):1252-3.

Pulido SM, Passaquin AC, Leijendekker WJ, Challet C, Wallimann T, Rüegg UT. Creatine supplementation improves intracellular Ca²⁺ handling and survival in mdx skeletal muscle cells. *FEBS Lett.* 1998;439(3):357-62.

Purdon AD, Rapoport SI. Energy requirements for two aspects of phospholipid metabolism in mammalian brain. *Biochem J.* 1998;335(Pt 2):313-8.

Quiroz JA, Gray NA, Kato T, Manji HK. Mitochondrially mediated plasticity in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33(11):2551-65.

Quiroz JA, Machado-Vieira R, Zarate Jr CA., Manji HK. Novel insights into lithium's mechanism of action: neurotrophic and neuroprotective effects. *Neuropsychobiology*. 2010;62(1):50-60.

Quraishi S, Frangou S. Neuropsychology of bipolar disorder: a review. *J Affect Disord*. 2002;72(3):209-26.

Rae C, Digney AL, McEwan SR, Bates TC. Oral creatine monohydrate supplementation improves cognitive performance; a placebo-controlled, double blind, cross-over trial. *Proc Biol Sci*. 2003a;270(1529):2147-50.

Rae C, Scott RB, Lee MA, Simpson JM, Hines N, Paul C, Anderson M, Karmiloff-Smith A, Styles P, Radda GK. Brain bioenergetics and cognitive ability. *Dev Neurosci*. 2003b;25(5):324-31.

Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci*. 2000;25(10):502-8.

Rakofsky JJ, Levy ST, Dunlop BW. Conceptualizing treatment nonadherence in patients with bipolar disorder and PTSD. *CNS Spectr*. 2011;16(1):11-20.

Rawson E, Lieberman H, Walsh T, Zuber S, Harhart J, Matthews T. Creatine supplementation does not improve cognitive function in young adults. *Physiol Behav*. 2008;95(1-2):130-4.

Rawson ES, Venezia AC. Use of creatine in the elderly and evidence for effects on cognitive function in young and old. *Amino Acids*. 2011; 40(5):1349-62.

Razmara A, Duckles SP, Krause DN, Procaccio V. Estrogen suppresses brain mitochondrial oxidative stress in female and male rats. *Brain Res*. 2007;1176:71-81.

Reddy R, Sahebarao MP, Mukherjee S, Murthy JN. Enzymes of the antioxidant defense system in chronic schizophrenic patients. *Biol Psychiatry*. 1991;30(4):409-12.

Regenold WT, Phatak P, Marano CM, Sassan A, Conley RR, Kling MA. Elevated cerebrospinal fluid lactate concentrations in patients with bipolar disorder and schizophrenia: implications for the mitochondrial dysfunction hypothesis. *Biol Psychiatry*. 2009;65(6):489-94.

Renshaw PF, Parow AM, Hirashima F, Ke Y, Moore CM, Frederick Bde B, Fava M, Hennen J, Cohen BM. Multinuclear magnetic resonance spectroscopy studies of brain purines in major depression. *Am J Psychiatry*. 2001;158(12):2048-55.

Rey A. Figuras Complexas de Rey: Teste de cópia e de reprodução de memória de figuras Geométricas Complexas. Manual. Revisão técnica e tradução de Terezinha Rey e Lucia Cristina Fleury Franco; adaptação brasileira de Margareth da Silva Oliveira. São Paulo: Casa do Psicólogo; 1998-1999.

Rizzuto R, Pozzan T. Microdomains of intracellular Ca²⁺: molecular determinants and functional consequences. *Physiol Rev*. 2006;86(1):369-408.

Robinson LJ, Ferrier IN. Evolution of cognitive impairment in bipolar disorder: a systematic review of cross-sectional evidence. *Bipolar Disord*. 2006;8(2):103-16.

Robinson LJ, Thompson JM, Gallagher P, Goswami U, Young AH, Ferrier IN, Moore PB. A meta-analysis of cognitive deficits in euthymic patients with bipolar disorder. *J Affect Disord*. 2006;93(1-3):105-15.

Rodriguez MC, MacDonald JR, Mahoney DJ, Parise G, Beal MF, Tarnopolsky MA. Beneficial effects of creatine, CoQ10, and lipoic acid in mitochondrial disorders. *Muscle Nerve*. 2007;35(2):235-42.

Roitman S, Green T, Osher Y, Kami N, Levine J. Creatine monohydrate in resistant depression: a preliminary study. *Bipolar Disord*. 2007;9(7):754-8.

Rosa AR, Sánchez-Moreno J, Martínez-Aran A, Salamero M, Torrent C, Reinares M, Comes M, Colom F, Van Riel W, Ayuso-Mateos JL, Kapczinski F, Vieta E. Validity and reliability of the Functioning Assessment Short Test (FAST) in bipolar disorder. *Clin Pract Epidemiol Ment Health*. 2007;3:5.

Rosenfeld J, King RM, Jackson CE, Bedlack RS, Barohn RJ, Dick A, Phillips LH, Chapin J, Gelinis DF, Lou JS. Creatine monohydrate in ALS: Effects on strength, fatigue, respiratory status and ALSFRS. *Amyotrophic Lateral Scler*. 2008;9(5):266-72.

Rothman DL. ¹H NMR studies of human brain metabolism and physiology. In: Gilles RJ (ed). *NMR in Physiology and Biomedicine*. San Diego, CA: Academic Press; 1994. p.353-372.

Royes LF, Figher MR, Furian AF, Oliveira MS, Fiorenza NG, Ferreira J, da Silva AC, Priel MR, Ueda ES, Calixto JB, Cavalheiro EA, Mello CF. Neuromodulatory effect of creatine on extracellular action potentials in rat hippocampus: role of NMDA receptors. *Neurochem Int.* 2008;53(1):33-7.

Russinova Z, Wewiorski NJ, Cash D. Use of alternative health care practices by persons with serious mental illness: perceived benefits. *Am J Public Health.* 2002;92(10):1600-3.

Sachs GS, Nierenberg AA, Calabrese JR, Marangell LB, Wisniewski SR, Gyulai L, Friedman ES, Bowden CL, Fossey MD, Ostacher MJ, Ketter TA, Patel J, Hauser P, Rapport D, Martinez JM, Allen MH, Miklowitz DJ, Otto MW, Dennehy EB, Thase ME. Effectiveness of adjunctive antidepressant treatment for bipolar depression. *N Engl J Med.* 2007;356(17):1711-22.

Sackett DL, Cook DJ. Can we learn anything from small trials? *Ann N Y Acad Sci.* 1993;703:25-31.

Saks VA, Kongas O, Vendelin M, Kay L. Role of the creatine/phosphocreatine system in the regulation of mitochondrial respiration. *Acta Physiol Scand.* 2000;168(4):635-41.

Salomons GS, van Dooren SJM, Verhoeven NM, Cecil KM, Ball WS, Degrauw TJ, Jakobs C. X-linked creatine-transporter gene (SLC6A8) defect: a new creatine-deficiency syndrome. *Am J Hum Genet.* 2001;68(6):1497-500.

Sarris J, Mischoulon D, Schweitzer I. Adjunctive nutraceuticals with standard pharmacotherapies in bipolar disorder: A systematic review of clinical trials. *Bipolar Disord.* 2011;13(5-6):454-65.

Sarris J, Schoendorfer N, Kavanagh DJ. Major depressive disorder and nutritional medicine: a review of monotherapies and adjuvant treatments. *Nutr Rev.* 2009;67(3):125-31.

Sauter A, Rudin M. Determination of creatine kinase kinetic parameters in rat brain by NMR magnetization transfer. Correlation with brain function. *J Biol Chem.* 1993;268(18):13166-71.

Scalabrini C, Hemmer W, Wallimann T. High amounts of creatine kinase in bergmann astrocytes and blood brain barrier cells of the vascular system of the cerebellum immunolocalization of b ck and mitochondrial ck. *Experientia.* 1989;45(abstract):A19.

Schaffer A, Cairney J, Veldhuizen S, Cheung A, Levitt A. Comparison of antidepressant use between subjects with bipolar disorder and major depressive disorder with or without comorbid anxiety. *J Clin Psychiatry.* 2007;68(11):1785-92.

Schedel JM, Tanaka H, Kiyonaga A, Shindo M, Schutz Y. Acute creatine ingestion in human: Consequences on serum creatine and creatinine concentrations. *Life Sci.* 1999;65(23):2463-70.

Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry.* 1965;122(5):509-22.

Schlattner U, Tokarska-Schlattner M, Wallimann T. Metabolite channeling: creatine kinase microcompartments. In: Lennarz WJ, Lane MD (eds) *Encyclopedia of biological chemistry.* London: Elsevier; 2011. p. 80-85.

Schlattner U, Tokarska-Schlattner M, Wallimann T. Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochim Biophys Acta*. 2006a;1762(2):164-80.

Schlattner U, Tokarska-Schlattner M, Wallimann T. Molecular structure and function of mitochondrial creatine kinases. In: Vial C (ed), Uversky VN (series ed). *Creatine kinase - biochemistry, physiology, structure and function*. New York: New Science Publishers; 2006b. p. 123-70.

Schulz KF, Altman DG, Moher D; CONSORT Group. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Intern Med*. 2010;152(11):726-32.

Schulz KF, Grimes DA. Sample size calculations in randomised trials: mandatory and mystical. *Lancet*. 2005;365(9467):1348-53.

Sestili P, Martinelli C, Bravi G, Piccoli G, Curci R, Battistelli M, Falcieri E, Agostini D, Gioacchini AM, Stocchi V. Creatine supplementation affords cytoprotection in oxidatively injured cultured mammalian cells via direct antioxidant activity. *Free Radic Biol Med*. 2006;40(5):837-49.

Shalbuyeva N, Brustovetsky T, Brustovetsky N. Lithium desensitizes brain mitochondria to calcium, antagonizes permeability transition, and diminishes cytochrome C release. *J Biol Chem*. 2007;282(25):18057-68.

Shao L, Young LT, Wang JF. Chronic treatment with mood stabilizers lithium and valproate prevents excitotoxicity by inhibiting oxidative stress in rat cerebral cortical cells. *Biol Psychiatry*. 2005;58(11):879-84.

Sidor MM, MacQueen GM. Antidepressants for the acute treatment of bipolar depression: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Psychiatry*. 2011; 72(2):156-67.

Simpson PB, Russell JT. Mitochondrial Ca²⁺ uptake and release influence metabotropic and ionotropic cytosolic Ca²⁺ responses in rat oligodendrocyte progenitors. *J Physiol*. 1998;508(Pt 2):413-26.

Sipila I, Rapola J, Simell O, Vannas A. Supplementary creatine as a treatment for gyrate atrophy of the choroid and retina. *N Engl J Med*. 1981;304(15):867-70.

Smith GA, Brett CL, Church J. Effects of noradrenaline on intracellular pH in acutely dissociated adult rat hippocampal CA1 neurones. *J Physiol*. 1998;512 (Part 2):487-505.

Solis MY, Painelli Vss, Artioli GG, Roschel H, Concepción Otaduy M, Gualano B. Brain creatine depletion in vegetarians? A cross-sectional H-1-magnetic resonance spectroscopy (H-1-MRS) study. *Br J Nutr*. 2014;111(7): 1272-4.

Sonawalla SB, Renshaw PF, Moore CM, Alpert JE, Nierenberg AA, Rosenbaum JF, FavaM. Compounds containing cytosolic choline in the basal ganglia: a potential biological marker of true drug response to fluoxetine. *Am J Psychiatry*. 1999;156(10):1638-40.

Sora I, Richman J, Santoro G, Wei H, Wang Y, Vanderah T, Horvath R, Nguyen M, Waite S, Roeske WR, et al. The cloning and expression of a human creatine transporter. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;204(1):419-27.

Speer O, Neukomm LJ, Murphy RM, Zanolla E, Schlattner U, Henry H, Snow RJ, Wallimann T. Creatine transporters: a reappraisal. *Mol Cell Biochem.* 2004;256-257(1-2):407-24.

Spreen O, Strauss E. A compendium of neuropsychological tests. New York: Oxford University Press; 1998a. p. 213-8: Stroop Test.

Spreen O, Strauss E. A compendium of neuropsychological tests. New York: Oxford University Press; 1998b. p.447-64: Controlled Oral Word Association (FAS).

Stead LM, Au KP, Jacobs RL, Brosnan ME, Brosnan JT. Methylation demand and homocysteine metabolism: effects of dietary provision of creatine and guanidinoacetate. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(5):E1095-100.

Stirone C, Duckles SP, Krause DN, Procaccio V. Estrogen increases mitochondrial efficiency and reduces oxidative stress in cerebral blood vessels. *Mol Pharmacol.* 2005;68(4):959-65.

Stockler S, Holzbach U, Hanefeld F, Marquardt I, Helms G, Requart M, Hänicke W, Frahm J. Creatine deficiency in the brain: a new, treatable inborn error of metabolism. *Pediatr Res.* 1994;36(3):409-13.

Stoll AL, Severus WE, Freeman MP, Rueter S, Zboyan HA, Diamond E, Cress KK, Marangell LB. Omega 3 fatty acids in bipolar disorder: a preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry.* 1999;56(5):407-12.

Stork C, Renshaw PF. Mitochondrial dysfunction in bipolar disorder: evidence from magnetic resonance spectroscopy research. *Mol Psychiatry.* 2005;10(10):900-19.

Straumann N, Wind A, Leuenberger T, Wallimann T. Effects of N-linked glycosylation on the creatine transporter. *Biochem J.* 2006;393(Pt 2):459-69.

Sullivan PG, Geiger JD, Mattson MP, Scheff SW. Dietary supplement creatine protects against traumatic brain injury. *Ann Neurol.* 2000;48(5):723-9.

Sun X, Wang JF, Tseng M, Young LT. Downregulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci.* 2006;31(3):189-96.

Suppes T, Datto C, Minkwitz M, Nordenhem A, Walker C, Darko D. Effectiveness of the extended release formulation of quetiapine as monotherapy for the treatment of acute bipolar depression. *J Affect Disord.* 2010;121(1-2):106-15.

Tabrizi SJ, Blamire AM, Manners DN, Rajagopalan B, Styles P, Schapira AH, Warner TT. High-dose creatine therapy for Huntington disease: A 2-year clinical and MRS study. *Neurology.* 2005;64(9):1655-6.

Tachikawa M, Fukaya M, Terasaki T, Ohtsuki S, Watanabe M. Distinct cellular expressions of creatine synthetic enzyme GAMT and creatine kinases uCK-Mi and CK-B suggest a novel neuron-glia relationship for brain energy homeostasis. *Eur J Neurosci.* 2004;20(1):144-60.

Tachikawa M, Ikeda S, Fujinawa J, Hirose S, Akanuma S, Hosoya K. Gamma-aminobutyric acid transporter 2 mediates the hepatic uptake of guanidinoacetate, the creatine biosynthetic precursor, in rats. *PLoS One* 2012;7(2):e32557.

Tamada RS, Issler CK, Amaral JA, Sachs GS, Lafer B. Treatment emergent affective switch: a controlled study. *Bipolar Disord*. 2004;6(4):333-7.

Tarnopolsky M, Martin J. Creatine monohydrate increases strength in patients with neuromuscular disease. *Neurology*. 1999;52(4):854-7.

Tarnopolsky MA, Mahoney DJ, Vajsar J, Rodriguez C, Doherty TJ, Roy BD, Biggar D. Creatine monohydrate enhances strength and body composition in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2004b;62(10):1771-7.

Tarnopolsky MA, Roy BD, MacDonald JR. A randomized, controlled trial of creatine monohydrate in patients with mitochondrial cytopathies. *Muscle Nerve*. 1997;20(12):1502-9.

Tarnopolsky MA, Simon DK, Roy BD, Chorneyko K, Lowther SA, Johns DR, Sandhu JK, Li Y, Sikorska M. Attenuation of free radical production and paracrystalline inclusions by creatine supplementation in a patient with a novel cytochrome b mutation. *Muscle Nerve*. 2004a;29(4):537-47.

Tarnopolsky MA. The mitochondrial cocktail: rationale for combined nutraceutical therapy in mitochondrial cytopathies. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008;60(13-14):1561-7.

Thase ME, Macfadden W, Weisler RH, Chang W, Paulsson B, Khan A, Calabrese JR; BOLDER II Study Group. Efficacy of quetiapine monotherapy in bipolar I and II depression: a double-blind, placebo-controlled study (the BOLDER II study). *J Clin Psychopharmacol*. 2006;26(6):600-9.

Thompson RJ, Kynoch PA, Sarjant J. Immunohistochemical localization of creatine kinase-BB isoenzyme to astrocytes in human brain. *Brain Res*. 1980;201(2):423-6.

Tohen M, Frank E, Bowden CL, Colom F, Ghaemi SN, Yatham LN, Malhi GS, Calabrese JR, Nolen WA, Vieta E, Kapczinski F, Goodwin GM, Suppes T, Sachs GS, Chengappa KR, Grunze H, Mitchell PB, Kanba S, Berk M. The International Society for Bipolar Disorders (ISBD) Task Force report on the nomenclature of course and outcome in bipolar disorders. *Bipolar Disord*. 2009;11(5):453-73.

Tohen M, Vieta E, Calabrese J, Ketter TA, Sachs G, Bowden C, Mitchell PB, Centorrino F, Risser R, Baker RW, Evans AR, Beymer K, Dube S, Tollefson GD, Breier A. Efficacy of olanzapine and olanzapine-fluoxetine combination in the treatment of bipolar I depression. *Arch Gen Psychiatry*. 2003;60(11):1079-88.

Tondo L, Vázquez G, Baldessarini RJ. Mania associated with antidepressant treatment: comprehensive meta-analytic review. *Acta Psychiatr Scand*. 2010;121(6):404-14.

Torok TL. Neurochemical transmission and the sodium-pump. *Prog Neurobiol*. 1989;32(1):11-76.

Torres IJ, Boudreau VG, Yatham LN. Neuropsychological functioning in euthymic bipolar disorder: a meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand Suppl*. 2007;116(Suppl. 434):17-26.

Turner CE, Byblow WD, Gant N. Creatine supplementation enhances corticomotor excitability and cognitive performance during oxygen deprivation. *J Neurosci*. 2015;35(4):1773-80.

van de Kamp JM, Pouwels PJW, Aarsen FK, ten Hoopen LW, Knol DL, de Klerk JB, de Coo IF, Huijmans JG, Jakobs C, van der Knaap MS, Salomons GS, Mancini GM. Long-term follow-up and treatment in nine boys with X-linked creatine transporter defect. *J Inher Metab Dis*. 2012;35(1):141-9.

van der Loos ML, Mulder PG, Hartong EG, Blom MB, Vergouwen AC, de Keyzer HJ, Notten PJ, Luteijn ML, Timmermans MA, Vieta E, Nolen WA; LamLit Study Group. Efficacy and safety of lamotrigine as add-on treatment to lithium in bipolar depression: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Psychiatry*. 2009;70(2):223-31.

Vandenbergh K, Goris M, Van Hecke P, Van Leemputte M, Vangerven L, Hespel P. Long-term creatine intake is beneficial to muscle performance during resistance training. *J Appl Physiol*. 1997;83(6):2055-63.

Vandenbergh K, Van Hecke P, Van Leemputte M, Vanstapel F, Hespel P. Phosphocreatine resynthesis is not affected by creatine loading. *Med Sci Sports Exerc*. 1999;31(2):236-42.

Vendelin M, Lemba M, Saks VA. Analysis of functional coupling: mitochondrial creatine kinase and adenine nucleotide translocase. *Biophys J*. 2004;87(1):696-713.

Verbessem P, Lemièrè J, Eijnde BO, Swinnen S, Vanhees L, Van Leemputte M, Hespel P, Dom R. Creatine supplementation in Huntington's disease: a placebo-controlled pilot trial. *Neurology*. 2003;61(7):925-30.

Volek JS, Duncan ND, Mazzetti SA, Putukian M, Gomez AL, Kraemer WJ. No effect of heavy resistance training and creatine supplementation on blood lipids. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2000;10(2):144-56.

Walker J. Creatine: biosynthesis, regulation, and function. *Adv Enzym.* 1979;50:117-242.

Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet.* 2005;39:359-407.

Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science.* 1999;283(5407):1482-8.

Wallimann T, Hemmer W. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. *Mol Cell Biochem.* 1994;133-134:193-220.

Wallimann T, Tokarska-Schlattner M, Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids.* 2011;40(5):1271-96.

Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J.* 1992;281 (Pt 1):21-40.

Wallimann T. Creatine: cheap ergogenic supplement with great potential for health and disease. *Subcell Biochem.* 2007;46:1-16.

Walter MC, Lochmuller H, Reilich P, Klopstock T, Huber R, Hartard M, Hennig M, Pongratz D, Müller-Felber W. Creatine monohydrate in muscular dystrophies: A double-blind, placebo-controlled clinical study. *Neurology.* 2000;54(9):1848-50.

Wang JF, Shao L, Sun X, L, Young LT. Increased oxidative stress in the anterior cingulate cortex of subjects with bipolar disorder and schizophrenia. *Bipolar Disord.* 2009;11(5):523-9.

Wang JF, Shao L, Sun X, Young LT. Glutathione S-transferase is a novel target for mood stabilizing drugs in primary cultured neurons. *J Neurochem.* 2004;88(6):1477-84.

Washizuka S, Iwamoto K, Kakiuchi C, Bundo M, Kato T. Expression of mitochondrial complex I subunit gene NDUFV2 in the lymphoblastoid cells derived from patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Neurosci Res.* 2009;63(3):199-204.

Washizuka S, Kakiuchi C, Mori K, Kunugi H, Tajima O, Akiyama T, Nanko S, Kato T. Association of mitochondrial complex I subunit gene NDUFV2 at 18p11 with bipolar disorder. *Am J Med Genet. B Neuropsychiatr Genet.* 2003;120B(1):72-8.

Washizuka S, Kakiuchi C, Mori K, Tajima O, Akiyama T, Kato T. Expression of mitochondria-related genes in lymphoblastoid cells from patients with bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2005;7(2):146-52.

Washizuka S, Kametani M, Sasaki T, Tochigi M, Umekage T, Kohda K, Kato T. Association of mitochondrial complex I subunit gene NDUFV2 at 18p11 with schizophrenia in the Japanese population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2006;141B(3):301-4.

Wasserman MJ, Corson TW, Sibony D, Cooke RG, Parikh SV, Pennefather PS, Li PP, Warsh JJ. Chronic lithium treatment attenuates intracellular calcium mobilization. *Neuropsychopharmacology.* 2004;29(4):759-69.

Watanabe A, Kato N, Kato T. Effects of creatine on mental fatigue and cerebral hemoglobin oxygenation. *Neurosci Res.* 2002;42(4):279-85.

Wechsler D. WAIS-III: administration and scoring manual. San Antonio: Psychological Corporation; 1997.

Wechsler D. Wechsler Memory Scale – Third Edition (WMS-III). San Antonio: The Psychological Corporation / Harcourt Brace & Company; 1997a.

Weeber E, Levy M, Sampson M, Anflous K, Armstrong DL, Brown SE, Sweatt JD, Craigen WJ. The role of mitochondrial porins and the permeability transition pore in learning and synaptic plasticity. *J Biol Chem.* 2002; 277(21):18891-7.

Whiteford HA, Degenhardt L, Rehm J, Baxter AJ, Ferrari AJ, Erskine HE, Charlson FJ, Norman RE, Flaxman AD, Johns N, Burstein R, Murray CJ, Vos T. Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2013;382(9904):1575-86.

Williams JM, Thompson VL, Mason-Parker SE, Abraham WC, Tate WP. Synaptic activity-dependent modulation of mitochondrial gene expression in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res.* 1998;60(1):50-6.

Winsberg ME, Sachs N, Tate DL, Adalsteinsson E, Spielman D, Ketter TA. Decreased dorsolateral prefrontal N-acetyl aspartate in bipolar disorder. *Biol Psychiatry.* 2000;47(6):475-81.

Wolff DJ, Poirier PG, Brostrom CO, Brostrom MA. Divalent cation binding properties of bovine brain Ca²⁺-dependent regulator protein. *J Biol Chem.* 1977;252(12):4108-17.

Wu P, Fuller C, Liu X, Lee HC, Fan B, Hoven CW, Mandell D, Wade C, Kronenberg F. Use of complementary and alternative medicine among women with depression: results of a national survey. *Psychiatr Serv.* 2007;58(3):349-56.

Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev.* 2000;80(3):1107-213.

Wyss M, Wallimann T. Creatine metabolism and the consequences of creatine depletion in muscle. *Mol Cell Biochem.* 1994;133-134:51-66.

Xu C, Li PP, Kennedy JL, Green M, Hughes B, Cooke RG, Parikh SV, Warsh JJ. Further support for association of the mitochondrial complex I subunit gene *NDUFV2* with bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2008;10(1):105-10.

Xu CJ, Klunk WE, Kanfer JN, Xiong Q, Miller G, Pettegrew JW. Phosphocreatine-dependent glutamate uptake by synaptic vesicles. A comparison with ATP-dependent glutamate uptake. *J Biol Chem.* 1996; 271(23):13435-40.

Yang F, He XP, Russell J, Lu B. Ca^{2+} influx-independent synaptic potentiation mediated by mitochondrial Na^{+} - Ca^{2+} exchanger and protein kinase C. *J Cell Biol.* 2003;163(3):511-23.

Yatham LN, Kennedy SH, Parikh SV, Schaffer A, Beaulieu S, Alda M, O'Donovan C, MacQueen G, McIntyre RS, Sharma V, Ravindran A, Young LT, Milev R, Bond DJ, Frey BN, Goldstein BI, Lafer B, Birmaher B, Ha K, Nolen WA, Berk M. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) collaborative update of CANMAT guidelines for the management of patients with bipolar disorder: update 2013. *Bipolar Disord.* 2013;15(1):1-44.

Yildiz A, Sachs GS, Dorer DJ, Renshaw PF. P-31 Nuclear magnetic resonance spectroscopy findings in bipolar illness: a meta-analysis. *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2001;106(3):181-91.

Yoon S, Kim JE, Hwang J, Kim TS, Kang HJ, Namgung E, Ban S, Oh S, Yang J, Renshaw PF, Lyoo IK. Effects of creatine monohydrate augmentation on brain metabolic and network outcome measures in women with major depressive disorder. *Biol Psychiatry*. 2015. pii: S0006-3223(15)01042-2.

Yoon SJ, Lyoo IK, Haws C, Kim TS, Cohen BM, Renshaw PF. Decreased glutamate/glutamine levels may mediate cytidine's efficacy in treating bipolar depression: a longitudinal proton magnetic resonance spectroscopy study. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(7):1810-8.

Yoshimine T, Morimoto K, Homburger HA, Yanagihara T. Immunohistochemical localization of creatine kinase BB-isoenzyme in human brain: comparison with tubulin and astroprotein. *Brain Res*. 1983;265(1):101-8.

Young AH, McElroy SL, Bauer M, Philips N, Chang W, Olausson B, Paulsson B, Brecher M; EMBOLDEN I (Trial 001) Investigators. A double-blind, placebo-controlled study of quetiapine and lithium monotherapy in adults in the acute phase of bipolar depression (EMBOLDEN I). *J Clin Psychiatry*. 2010;71(2):150-62.

Young RC, Biggs JT, Ziegler VE, Meyer DA. A rating scale for mania: reliability, validity and sensitivity. *Br J Psychiatry*. 1978;133:429-35.

Yuksel C, Du F, Ravichandran C, Goldbach JR, Thida T, Lin P, Dora B, Gelda J, O'Connor L, Sehovic S, Gruber S, Ongur D, Cohen BM. Abnormal high-energy phosphate molecule metabolism during regional brain activation in patients with bipolar disorder. *Mol Psychiatry*. 2015;20(9):1079-84.

Zahodne LB, Stern Y, Manly JJ. Depressive symptoms precede memory decline, but not vice versa, in non-demented older adults. *J Am Geriatr Soc*. 2014;62(1):130-4.

Zaleska MM, Floyd RA. Regional lipid peroxidation in rat brain in vitro: possible role of endogenous iron. *Neurochem Res*. 1985;10(3):397-410.

Zhu S, Li M, Figueroa BE, Liu A, Stavrovskaya IG, Pasinelli P, Beal MF, Brown RH Jr., Kristal BS, Ferrante RJ, Friedlander RM. Prophylactic creatine administration mediates neuroprotection in cerebral ischemia in mice. *J Neurosci*. 2004;24(26):5909-12.