

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA
E CRÔNICA DA AGMATINA**

MARIANA PALAIA ZEIDAN

Florianópolis

2004

EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA E
CRÔNICA DA AGMATINA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Santa
Catarina como requisito Parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Neurociências

Orientador: Prof. Dr. Nelson Horácio Gabilan

Co-Orientador: Profa. Dra. Ana Lúcia Severo Rodrigues

Florianópolis

2004

Ao meu pai (*in memoriam*)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao professor Nelson Horacio Gabilan, por ter me acolhido na orientação deste trabalho, pela compreensão e atenção a mim dispensadas.

À professora Ana Lúcia Severo Rodrigues, a quem todos e quaisquer adjetivos que eu tentasse buscar na língua portuguesa seriam insuficientes para traduzir tanto respeito e admiração.

Ao doutorando Ângelo Oscar da Rosa, pelo exemplo de sabedoria, lealdade, companherismo e principalmente amizade.

À Betina Wendel, por ter sido minha incansável companheira de trabalho.

Ao grande Nivaldo, secretário da pós-graduação, pela eficiência e dedicação.

Ao corpo docente do Curso de Pós-Graduação em Neurociências, em especial, aos professores Adair Roberto Santos e Mariana Terenzi, pela atenção e competência.

À minha amiga Mary Lou, por ter sido o meu “anjo” durante a execução desta dissertação.

À minha mãe, pelo exemplo de força, luta, otimismo e dignidade.

Aos meus dois grandes amores, meu marido e meu filho, sem os quais, eu jamais teria conseguido chegar até aqui.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Depressão	01
1.2. Mecanismo de ação de antidepressivos	03
1.3. Agmatina	11
1.4. Agmatina e depressão	14
1.5. Modelos experimentais de depressão	16
2. JUSTIFICATIVA	18
3. OBJETIVOS	19
3.1. Objetivo geral	19
3.2. Objetivos específicos	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1. Drogas e reagentes	20
4.2. Animais e tratamento	20
4.3. Testes comportamentais	21
4.3.1. Teste do nado forçado	21
4.3.2. Teste do campo aberto	22

4.4. Análise do mecanismo de ação antidepressiva da agmatina administrada agudamente -----	22
4.4.1. Avaliação do envolvimento dos receptores imidazólicos na ação antidepressiva da agmatina -----	23
4.4.2. Avaliação do efeito antidepressivo sinérgico entre agmatina e agonistas imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos -----	23
4.4.3. Avaliação do envolvimento dos receptores α_2 -adrenérgicos no efeito antidepressivo sinérgico da agmatina e clonidina -----	24
4.4.4. Avaliação do efeito antidepressivo sinérgico entre agmatina ou MK-801 com ligantes imidazólicos -----	24
4.5. Efeito antidepressivo do tratamento crônico com agmatina -----	25
4.6. Análise estatística -----	25
5. RESULTADOS -----	26
5.1. Inibição do efeito antidepressivo da agmatina por antagonistas de receptores imidazólicos -----	26
5.2. Efeito antidepressivo sinérgico entre agmatina e agonistas de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos -----	28
5.3. Reversão do efeito antidepressivo sinérgico da agmatina e clonidina por antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos -----	30
5.4. Estudo do efeito antidepressivo sinérgico entre a agmatina e o MK-801 com ligantes imidazólicos -----	31
5.5. Efeito antidepressivo da agmatina administrada cronicamente -----	33

5.6. Avaliação da atividade motora de animais tratados cronicamente com agmatina	34
6. DISCUSSÃO	35
7. CONCLUSÕES	45
8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

ADC – Enzima arginina descarboxilase
BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais
CREB – Proteína ligante ao elemento de resposta ao AMP_c
DSM-IV – Manual de Diagnóstico e Estatística de Desordens Mentais
ECT – Terapia eletroconvulsivante
GMP – Guanosina 5' monofosfato
HPA – Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal
5-HT - Serotonina
5-HT₂ - Receptor de serotonina do subtipo 2
5-HT₃ - Receptor de serotonina do subtipo 3
iMAO – Inibidores seletivos da monoamino oxidase
i.c.v. – Intracerebroventricular
i.p. – Intraperitoneal
ISRS – Inibidor seletivo da recaptção de serotonina
MAO – Enzima monoamino oxidase
NMDA – N-metil D-aspartato
NO – Óxido nítrico
NOS – Enzima óxido nítrico sintase
NGF – Fator de crescimento do nervo
NT-3 – Neurotrofina 3
RI – Receptor imidazólico
SNC – Sistema nervoso central
TCA – Teste do campo aberto
TNF – Teste do nado forçado
TrkB - Receptor de tirosina quinase
TSC - Teste da suspensão da cauda

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Efeito do pré-tratamento dos animais com efaroxan, idazoxan e antazolina sobre a redução do tempo de imobilidade causada pela agmatina no TNF..... 27
- Figura 2.** Efeito antidepressivo sinérgico da agmatina com clonidina ou moxonidina no TNF..... 29
- Figura 3.** Efeito do pré-tratamento com ioimbina sobre a redução do tempo de imobilidade causada pela agmatina com clonidina no TNF..... 30
- Figura 4.** Efeito antidepressivo sinérgico da agmatina com efaroxan ou antazolina e do MK-801 com efaroxan ou antazolina no TNF..... 31
- Figura 5.** Efeito antidepressivo sinérgico da agmatina com MK-801 no TNF..... 32
- Figura 6.** Efeito do tratamento crônico com agmatina e fluoxetina na redução do tempo de imobilidade no TNF..... 33
- Figura 7.** Efeito do tratamento crônico com agmatina e fluoxetina no número de cruzamentos no teste do campo aberto..... 34

RESUMO

A agmatina tem sido considerada como um neurotransmissor/neuromodulador endógeno que está envolvida na fisiopatologia da depressão. Os objetivos deste trabalho foram: i) investigar o envolvimento de receptores imidazólicos e α_2 -adrenérgicos no efeito antidepressivo da administração aguda de agmatina, utilizando o teste do nado forçado (TNF) em camundongos; e ii) verificar se o tratamento crônico com agmatina e fluoxetina produz efeito antidepressivo no TNF. Os resultados mostraram que o efeito antidepressivo da agmatina administrada agudamente (10 mg/kg, i.p.) foi revertido pelo pré-tratamento dos animais com efaroxan, idazoxan e antazolina. O efeito antidepressivo da agmatina foi sinérgico com agonistas de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos, como a clonidina e moxonidina. O efeito antidepressivo sinérgico da agmatina e clonidina foi prevenido pela ioimbina. Este efeito também foi observado com agmatina e MK-801 e antazolina e MK-801. O conjunto destes resultados sugerem que o efeito antidepressivo da agmatina tem a participação dos receptores α_2 -adrenérgicos, imidazólicos e NMDA. A administração crônica de agmatina (0,3 - 3 mg/kg, i.p.), durante 21 dias, causou uma redução significativa e dependente da dose no TNF, em camundongos; sem afetar a atividade locomotora no teste do campo aberto. Estes dados estendem os conhecimentos sobre o mecanismo do efeito antidepressivo da agmatina.

ABSTRACT

Agmatine has been considered as an endogenous neurotransmitter/neuromodulator that is involved in the physiopathology of depression. The aims of this work were: i) to investigate the involvement of imidazolic and α_2 -adrenergic receptors in the antidepressant-like effect of agmatine's acute administration, using the forced swim test (FST) with mice; and ii) to verify the antidepressant-like effect of chronic treatment with agmatine and fluoxetine in FST. The results show the antidepressant-like effect of agmatine acute administration (10 mg/kg, i.p.) was reverted by efaroxan, idazoxan and antazoline pretreatment. The agmatine's antidepressant-like effect was synergic with clonidine and moxonidine, both imidazolic I_1 and α_2 -adrenergic receptors agonists. The antidepressive synergic effect of agmatine with clonidine was prevented by yohimbine. This effect was also observed with agmatine and MK-801 and antazoline and MK-801. In conclusion, these results suggest the involvement of α_2 -adrenergic, imidazolic and NMDA receptors in the antidepressant-like effect of agmatine. The chronic administration of agmatine (0,3 to 3 mg/kg, i.p.), during 21 days, caused a significant reduction of the immobility time in the FST with mice, without affecting the motor activity in the open field test. These data may improve the current knowledge about the mechanism of agmatine's antidepressant effect.

1. INTRODUÇÃO

1.1. DEPRESSÃO

O "Manual de Diagnóstico e Estatística de Desordens Mentais", da Associação Norte-Americana de Psiquiatria, na sua quarta versão (DSM-IV, American Psychiatric Association, 1994) classifica os distúrbios afetivos em dois grandes grupos, os distúrbios depressivos ou desordem unipolar (depressão maior e distímia) e os distúrbios bipolares (doença maníaco-depressiva) (American Psychiatric Association, 1994). A depressão é um problema de saúde pública e afeta centenas de milhões de pessoas no mundo, desde indivíduos na infância até a idade mais avançada (Altar, 1999; Greenberg et al., 1993). A depressão é mais freqüente em mulheres, numa proporção de cinco mulheres para dois homens (Wong e Licinio, 2001). O suicídio tem sido a causa de morte em aproximadamente 15% de indivíduos com depressão maior (Musselman et al., 1998). Os pacientes deprimidos são freqüentemente associados à incapacitação funcional e comprometimento da saúde física, o que limita sua atividade e bem-estar, causando um custo elevado em vários países (Fleck et al., 2003).

Os critérios para o estabelecimento do diagnóstico da depressão maior incluem cinco ou mais dos seguintes sintomas: humor depressivo, anedonia, desesperança, culpa, desvalia, desamparo, alteração de apetite, alterações do sono, retardo ou agitação psicomotora, fadiga, dificuldade de concentração, pensamentos ou tentativa de suicídio. Estes sintomas devem estar presentes por pelo menos duas semanas, sendo que pelo menos um deve ser humor depressivo ou anedonia quase todos os dias (American Psychiatric Association, 1994).

Além destes sintomas, os pacientes depressivos podem apresentar distúrbios cardiovasculares, cérebro-vasculares, músculo-esqueléticos, metabólicos, pulmonares e sintomas como dores crônicas (Von Knorring et al., 1984; Kumar et al., 2002); ou ainda ansiedade geral, ansiedade social, pânico obsessivo compulsivo e estresse pós-traumático (Nemeroff e Owens, 2002).

Os transtornos depressivos podem resultar da disfunção de vários neurotransmissores ou sistemas metabólicos (Duman et al., 1997; Skolnick, 1999; Manji et al., 2001). A hipótese monoaminérgica postula que a depressão resulta de uma deficiência de serotonina, ou noradrenalina, ou de seus receptores ineficientes (Mann e Kapur, 1995; Wong e Licinio, 2001). A função dopaminérgica reduzida também está implicada na fisiopatologia da depressão (Rampello et al., 2000; D'Aquila et al., 2000).

Os receptores NMDA e a via da L-arginina-óxido nítrico têm sido implicadas na fisiopatologia da depressão. Resultados pré-clínicos demonstraram que indivíduos deprimidos possuem um nível elevado de glutamina plaquetário (Levine et al., 2000) e níveis alterados de nitrito no sangue, sugerindo uma alteração no ciclo do glutamato e glutamina, além de alteração na produção de óxido nítrico

(NO) (Elgün e Kumbasar, 2000; Suzuki et al., 2001). Também foram relatadas alterações no fluxo sanguíneo e no metabolismo da glicose no lobo frontal e temporal e gânglios da base em indivíduos com depressão (Sheline et al., 1996; Soares e Mann, 1997).

1.2. MECANISMO DE AÇÃO DE ANTIDEPRESSIVOS

Uma variedade de terapias, tais como psicoterapia eletroconvulsiva têm sido utilizadas no tratamento da depressão, geralmente com sucessos limitados (Ressler e Nemeroff, 1999). A introdução dos inibidores da enzima monoamina oxidase (iMAO) e dos antidepressivos tricíclicos na década de 1950, seguido pelos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS) na década de 1980, redefiniu o tratamento da depressão (Wong e Licínio, 2001). Assim, vários medicamentos antidepressivos têm demonstrado eficácia no tratamento da depressão e vêm sendo utilizados nas últimas quatro décadas (Nemeroff e Owens, 2002). Os antidepressivos tricíclicos aumentam a concentração de serotonina ou noradrenalina, e dopamina, em menor intensidade, na fenda sináptica, pois bloqueiam a recaptção destas monoaminas (Baldessarini, 1996). Com a introdução de técnicas de ligante marcado foi verificado que o tratamento prolongado com antidepressivos também provoca alterações complexas na neurotransmissão monoaminérgica.

Outros antidepressivos podem ainda ser inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS) ou da recaptção de noradrenalina (Nemeroff e Owens, 2002). As ações terapêuticas destes compostos são bastante diversas, pois além

de tratar vários tipos de depressão, eles também são utilizados no tratamento do transtorno obsessivo compulsivo, na doença do pânico, na bulimia e em outros transtornos neurológicos (Stahl, 1998). O tratamento com alguns antidepressivos também aumenta a transmissão dopaminérgica no sistema mesolímbico, induzindo a melhora nos sintomas da depressão, tal como anedonia (Rampello et al., 2000). Portanto o sistema dopaminérgico mesolímbico funciona como uma importante via de motivação e recompensa no SNC (D'Aquila et al., 2000; Rampello et al., 2000).

O tratamento para a depressão com terapia eletroconvulsiva (ECT) é reservada para pacientes severamente deprimidos que não reagem à terapia com drogas convencionais (Altar, 1999). Os trabalhos sobre depressão enfocam modificações na concentração de neurotransmissores ou dos níveis de seus receptores. Os resultados destes estudos são diversos com a observação de que a ação terapêutica de antidepressivos requer administração crônica, embora a inibição da recaptação de serotonina e norepinefrina ocorram imediatamente (Duman, 2002).

Os antidepressivos tricíclicos, tais como a imipramina, a clomipramina e a desipramina potenciam as ações das aminas biogênicas por bloquear o mecanismo fisiológico de inativação das mesmas, o qual envolve um mecanismo de recaptação pré-sináptica. Os inibidores da enzima MAO, tais como fenelzina e selegilina são agentes antidepressivos por inibir a inativação das monoaminas, aumentando a sua concentração no cérebro. Contudo, os efeitos colaterais e a sua baixa eficácia em alguns pacientes, têm levado à procura de novas drogas mais seletivas e com menos efeitos colaterais (Skolnick, 1999).

Os antidepressivos, como o bupropion (inibidor da recaptação de noradrenalina/dopamina), efetivo no tratamento da depressão bipolar e a nafazedona (inibidor da recaptação de serotonina e bloqueador do receptor 5-HT₂) não provocam disfunção sexual, um dos mais comuns efeitos colaterais dos antidepressivos clássicos (Yadid et al., 2000).

Além dos antidepressivos clássicos que agem inibindo a recaptação de monoaminas e dos inibidores da enzima MAO, existem outras drogas com potencial efeito antidepressivo ou que agem na modulação dos efeitos dos antidepressivos (Nemeroff e Owens, 2002). Antagonistas de receptores α_2 -adrenérgicos participam da ação de compostos com ação antidepressiva, como no caso da mirtazipina, que aumenta a liberação noradrenérgica e serotoninérgica através da ação de auto-receptores ou hetero-receptores (Gupta et al., 2003). Estudos mostraram que a administração de idazoxan, um antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos e imidazólicos I₂, a pacientes depressivos, produziu 50% de efeito antidepressivo quando comparado aos efeitos produzidos pelo bupropion. Isto sugere que o idazoxan poderia ser efetivo no tratamento da depressão bipolar (Osman et al., 1989; Potter et al., 1994). Além disso, é interessante ressaltar que antagonistas de receptores α_2 -adrenérgicos possuem um maior efeito em pacientes deprimidos do que em indivíduos saudáveis (Price et al., 1986). Os receptores α_1 -adrenérgicos também podem estar envolvidos no efeito antidepressivo, pois o prazosin, um antagonista destes receptores, reverteu o efeito antidepressivo de drogas no TNF (Rodrigues et al., 2002).

Tem sido demonstrado que compostos que reduzem a transmissão nos receptores NMDA são antidepressivos e que o tratamento com antidepressivos

podem modular a função destes receptores. Alguns trabalhos mostraram que o composto MK-801, antagonista de receptores NMDA, foi efetivo em produzir uma ação antidepressiva em modelos animais de depressão (Trullas e Skolnick, 1990; Skolnick, 1999; Petrie et al., 2000).

Também foi demonstrado que inibidores da óxido nítrico sintase (NOS) exercem efeitos antidepressivos em modelos animais de depressão (Harkin et al., 1999; Da Silva et al., 2000; Yildiz et al., 2000). Além disto, o tratamento com antidepressivos como citalopram, paroxetina e imipramina diminuem a atividade da NOS no hipocampo em estudos “*in vitro*” (Wegener et al., 2003).

Estudos recentes também tem associado a depressão com reduções regionais do número (morte celular) ou do tamanho de glias e neurônios no hipocampo (Manji et al., 2001). De fato, medicamentos com diferentes mecanismos de ação utilizados para o tratamento da depressão como a fluoxetina (Sanchez et al., 2001), cetamina (Engelhard et al., 2003; Proescholdt et al., 2001), valproato (Mora et al., 1999) e o lítio (Chuang et al., 2002) possuem propriedades neuroprotetoras, influenciando no processo de morte neuronal. Várias drogas com ação antidepressiva em modelos animais (Cervo e Samanin, 1987; Eckeli et al., 2000; Krocza et al., 2001; Zomkowski et al., 2002; Harkin et al., 2003) também possuem um efeito neuroprotetor, como a agmatina (Olmos et al., 1999), o GMP (Malcon et al., 1997), o zinco (Dominguez et al., 2003), o 7-nitroindazol (Castagnoli et al., 1999) e o 8-OH-DPAT (Melena et al., 2000).

Além da serotonina e da noradrenalina, outros neurotransmissores, incluindo dopamina, o glutamato, neuropeptídeos e mesmo fatores de crescimento como o BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro), têm sido implicados na

fisiopatologia da depressão (Manji et al., 2001). Descobertas recentes sugerem que medicamentos antidepressivos e ECT podem estar atuando pela estimulação da produção de fatores neurotróficos. O tratamento de ratos com os antidepressivos, desipramina e fluoxetina (Prozac ®) induziu a expressão de fatores neurotróficos, como o BDNF, a neurotrofina mais abundante no cérebro (Altar, 1999).

Antes que se suspeitasse da existência de uma conexão entre as neurotrofinas e a depressão, esta família de fatores de crescimento tinha sido estudada pelo seu papel no sistema nervoso. O fator de crescimento do nervo (NGF) e o BDNF são proteínas envolvidas na sobrevivência e plasticidade neuronal de neurônios dopaminérgicos, colinérgicos e serotoninérgicos no SNC (Altar, 1999). Os efeitos fundamentais do BDNF e da neurotrofina 3 (NT-3) na função do neurônio serotoninérgico, no crescimento e na regeneração celular sugeriram uma importante conexão entre as neurotrofinas e a depressão. Esta conexão foi, em parte, baseada no conhecimento de que o encéfalo e os fluidos ventriculares dos indivíduos que estão numa grave crise de depressão revelaram uma redução na concentração de 5-HT no encéfalo (Altar, 1999).

Para avaliar a conexão entre as neurotrofinas e a depressão, Siuciak et al. (1997) estudaram, em ratos, os efeitos comportamentais produzidos por infusões de BDNF no prosencéfalo e no núcleo dorsal da rafe. Os animais que receberam infusões de BDNF apresentaram efeito antidepressivo.

Assim, tais ações poderiam indicar uma deficiência na produção de neurotrofinas endógenas na depressão. Deste modo, foi sugerida uma farmacoterapia “estimulante de neurotrofinas” para a depressão (Altar, 1999).

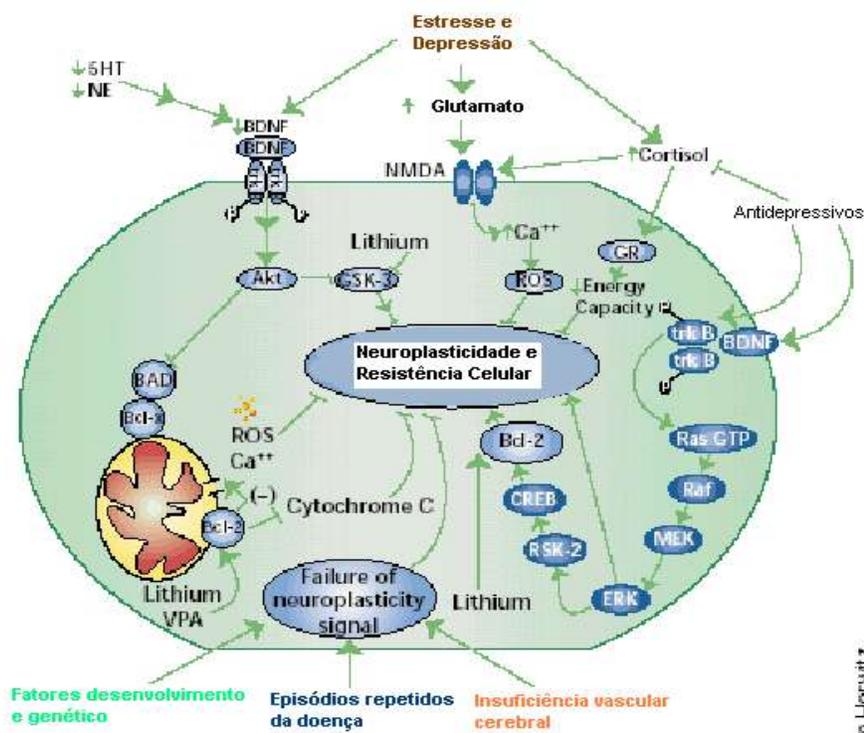
Além disto está sendo demonstrado que os fatores neurotróficos têm um importante papel na patofisiologia, bem como no tratamento da depressão (Angelucci et al., 2003). Tem sido demonstrado que os antidepressivos aumentam a expressão de BDNF no hipocampo de ratos, e que os níveis deste fator neurotrófico no soro poderiam ser utilizados como marcador biológico opcional para a depressão (Shimizu et al., 2003). Angelucci et al. (2003) demonstraram que o estímulo eletroconvulsivo também aumentou a concentração de NGF, mas não de BDNF no hipocampo de ratos.

Duman e colaboradores (1997) demonstraram que o tratamento com antidepressivos, incluindo os inibidores específicos de 5-HT, de recaptação de noradrenalina ou inibidores da MAO, elevaram os níveis de BDNF no hipocampo do rato, após três semanas de tratamento crônico, mas não depois de um dia de tratamento. Os antidepressivos utilizados também elevam a expressão dos receptores TrkB, aos quais o BDNF se liga com alta afinidade. Ao contrário, estimulantes como a cocaína e outras drogas psicoativas não aumentam a expressão de BDNF ou de seus receptores (TrkB), mesmo quando administradas cronicamente. Assim, ainda parece necessário testar um maior número de antidepressivos efetivos clinicamente para determinar os seus efeitos na expressão de BDNF ou NT-3 (Altar, 1999).

Recentemente, o tratamento e a fisiopatologia da depressão maior têm focalizado as vias de sinalização intracelular. Estas interagem em vários níveis, desse modo formando cadeias de sinalização complexas, permitindo que o neurônio receba, processe e responda a informação e module o sinal gerado por

múltiplos processos fisiológicos e cognitivos, bem como as diversas funções fisiológicas (Guimarães, 1999).

Recentemente, a depressão maior tem sido associada com danos na via de sinalização que regula a neuroplasticidade e sobrevivência celular (Manji et al., 2001). Alguns antidepressivos atuam na neuroproteção por modularem de certa forma, a via de sinalização celular da proteína ligante ao elemento responsivo ao AMP_c (CREB). Vários trabalhos têm demonstrado que a administração crônica de antidepressivos estimulam a via do AMP_c em vários níveis, incluindo a expressão aumentada de CREB, a qual tem sua fosforilação aumentada (Skolnick, 1999; Duman et al., 2000). Entre os múltiplos alvos gênicos que poderiam ser regulados pelo CREB e que poderiam estar envolvidos nas ações antidepressivas e na



Steve Horvitz

fisiopatologia da depressão, estão o BDNF e a proteína antiapoptótica Bcl-2, o

que poderia explicar o efeito a longo prazo de certos antidepressivos (Manji et al., 2001). (Ver esquema abaixo).

ESQUEMA – Ação de antidepressivos e vias de sinalização celular (Manji et al., 2001).

O papel da cascata AMPc-CREB e do BDNF na ação do tratamento com antidepressivos é também suportada por estudos que demonstram que a estimulação destas vias melhora o desempenho nos modelos comportamentais de depressão (Manji et al., 2001).

Estudos recentes demonstram que o estresse crônico diminui a expressão do BDNF no hipocampo de ratos (Smith et al., 1995; Duman et al., 1997). Isto poderia contribuir para a atrofia ou morte dos neurônios hipocâmpais. Evidências recentes mostraram que a injeção de BDNF, no hipocampo de ratos produziu efeito antidepressivo (Conti et al., 2002; Shirayama et al., 2002). Deste modo, o BDNF parece modular a atividade de sistemas neuroquímicos envolvidos na depressão e pode ter um importante papel na neuropatologia e tratamento da doença. Compreender como bloqueadores da recaptação de monoaminas ou inibidores da MAO elevam os níveis de BDNF pode levar a novas maneiras de aumentar a expressão dos níveis de proteínas endógenas do fator de crescimento.

1.3. AGMATINA

A agmatina foi primeiramente descoberta em 1910, por Kossel e é conhecida como um intermediário no metabolismo das poliaminas de várias bactérias, fungos, parasitas, plantas e invertebrados marinhos, onde as poliaminas têm uma importante função no crescimento celular. Em formas de vidas inferiores, a agmatina é hidrolisada em putrescina, um precursor da espermina, e em outras poliaminas pela arginina uril hidrolase (agmatinase) (Tabor e Tabor, 1984; Reis e Regunathan, 2000). A agmatina é sintetizada pela descarboxilação da *L*-arginina pela (ADC) e hidrolisada para putrescina e uréia pela agmatinase. Até meados de 1990, acreditava-se que a agmatina, a enzima arginina descarboxilase (ADC) e a agmatinase não fossem encontradas em mamíferos. Em 1994, através de uma pesquisa para um ligante endógeno para o sítio de ligação imidazólico (I), uma molécula foi isolada do encéfalo de mamíferos, a qual foi identificada como agmatina (Li et al., 1994). A ADC e subseqüentemente a agmatinase foram também identificadas no encéfalo de mamíferos (Sastre et al., 1996).

A agmatina não está presente somente no encéfalo, mas também é amplamente distribuída em tecidos e principalmente no estômago e no sangue (Raasch et al., 1995; Feng et al., 1997). Ela também foi detectada na medula

espinhal, indicando que poderia ser um modulador endógeno da regulação da dor (Fairbanks et al., 2000).

A agmatina foi encontrada no encéfalo de ratos, regionalmente distribuída no córtex cerebral, tronco encefálico, mesencéfalo, tálamo e hipotálamo (Raasch et al., 2001). Na maior parte das regiões contendo agmatina também estão expressos os α_2 - adrenoceptores e sítios de ligação imidazólicos (Raasch et al., 2001).

As células da glia não somente expressam sítios de ligação imidazólicos, mas também sintetizam agmatina (Reis e Regunathan, 2000). Portanto, a agmatina pode ser sintetizada na glia, liberada para o espaço extracelular e depois transportada e armazenada nos neurônios para subseqüentemente liberação (Reis e Regunathan, 2000).

A agmatina preenche a maioria dos critérios para ser considerada como um novo neurotransmissor/neuromodulador no sistema nervoso central (SNC). A síntese do composto ocorre no encéfalo, estocada em vesículas sinápticas em diferentes neurônios com distribuição seletiva no SNC, acumulada por recaptação, liberada mediante despolarização e inativada por recaptação seletiva ou degradada na fenda sináptica pela enzima agmatinase (Reis e Regunathan, 2000; Raasch et al., 2001).

A agmatina possui alta afinidade pelos receptores α_2 -adrenérgicos e imidazólicos, mas apresenta baixa afinidade por receptores α_1 e β -adrenérgicos (Li et al., 1994; Reis e Regunathan, 2000; Raasch et al., 2001). Os receptores imidazólicos, uma nova família de receptores não adrenérgicos, estão presentes no encéfalo, especialmente no sistema límbico, plaquetas e outros órgãos (Halaris

et al., 2001). Tem sido demonstrado que estes receptores, entre outras funções, possam atuar modulando a depressão e a nocicepção (Boronat et al., 1998). Dois subtipos de sítios de ligação imidazólicos foram identificados, receptores imidazólicos I₁ e I₂. Estudos com radioligantes demonstraram que receptores imidazólicos I₁ tem uma distribuição limitada no encéfalo, sendo encontrados principalmente no tronco encefálico (Ernsberger et al., 1987). O sítio de ligação I₁ está localizado no córtex frontal e no bulbo ventrolateral em área associada à regulação da pressão sanguínea. Estudos de pacientes com depressão unipolar tem revelado um aumento da expressão do subtipo I₁ em plaquetas (Halaris et al., 2001). Os receptores imidazólicos por estarem amplamente distribuídos central e periféricamente, estão envolvidos na mediação de um número de respostas tanto em tecidos periféricos como no SNC (Regunathan e Reis, 1996). Existem muitas ações desempenhadas por estimulação de receptores imidazólicos como: diminuição da pressão sanguínea por estimulação de sítios I₁ no mesencéfalo, diminuição dos níveis de noradrenalina plasmática, produção de insulina, controle da ingestão alimentar, dentre outros (Reis e Regunathan, 2000; Raasch et al., 2001).

A agmatina apresenta características únicas, ela pode entrar pós-sinápticamente no neurônio via receptor nicotínico ou possivelmente, como um cátion orgânico é capaz de bloquear os receptores glutamatérgicos do subtipo NMDA e outros canais iônicos ativados por ligantes (ex. receptor nicotínico e 5-HT₃ ativado pela acetilcolina e serotonina, respectivamente), bem como inibir a enzima óxido nítrico sintase (NOS) (Gilad e Gilad, 2000; Reis e Regunathan, 2000; Raasch et al., 2001; Weng et al., 2003).

A agmatina tem várias ações farmacológicas; periféricamente modula o metabolismo de insulina e de glicose; causa liberação de insulina dependente da dose das células da ilhota exposta à glicose, tem propriedades semelhantes à insulina nos adipócitos isolados, inibe a liberação de catecolaminas das células cromafins da adrenal e no rim, a agmatina é natriurética (Reis e Regunathan, 2000; Raasch et al., 2001). No SNC, a agmatina libera o hormônio liberador do hormônio luteinizante do hipotálamo e antagoniza alguns estados hiperalgésicos sem alterar a dor (Reis e Regunathan, 2000; Raasch et al., 2001). Dependendo da dose, a agmatina aumenta a analgesia da morfina e cronicamente previne a tolerância à morfina (Kolesnikov et al., 1996).

A agmatina também mostrou ser neuroprotetora, reduzindo a perda de neurônios do hipocampo em modelos de isquemia em roedores (Gilad et al., 1996; Gilad e Gilad, 2000) e da toxicidade do glutamato em culturas de neurônios cerebelares (Olmos et al., 1999). A agmatina reduziu a quantidade de eventos isquêmicos ou perda de neurônios do hipocampo em modelos de isquemia focal ou global em roedores, respectivamente (Gilad et al., 1996; Gilad e Gilad, 2000; Olmos et al., 1999). Estes efeitos podem ser devido à capacidade da agmatina em bloquear os receptores glutamatérgicos do subtipo NMDA e outros canais iônicos ativados por receptor (Reis e Regunathan, 2000).

1.4. AGMATINA E DEPRESSÃO

Trabalhos recentes começaram a investigar os mecanismos neurais que regulam a depressão. É fato que as principais teorias que procuram explicar a

fisiopatologia da depressão tenham se originado da elucidação dos efeitos farmacológicos e do mecanismo de ação das drogas antidepressivas.

Vários resultados indicam um potencial papel fisiopatológico dos sítios de ligação imidazólico no desenvolvimento da depressão: a densidade do sítio de ligação I_1 na membrana plasmática de plaquetas humanas está aumentada em pacientes com depressão, em comparação com pacientes saudáveis, mas se normaliza após tratamento com antidepressivos (Piletz et al., 1994; 1996). Os sítios de ligação imidazólico I_2 também se encontravam aumentados no córtex frontal de vítimas suicidas (Piletz et al., 1994). Halaris et al. (1999) demonstraram que a concentração plasmática de agmatina está elevada significativamente em pacientes com depressão, em comparação com indivíduos saudáveis (grupo controle). Neste estudo, o tratamento com o antidepressivo bupropion normalizou a concentração de agmatina no plasma.

Recentemente, Zomkowski et al. (2002) demonstraram que a agmatina administrada agudamente por vias intraperitoneal e intracerebroventricular foi efetiva em produzir um efeito antidepressivo, quando avaliada no TNF. A ação antidepressiva da agmatina administrada pela via i.p. no TNF foi também confirmada pelo teste da suspensão da cauda (TSC).

Li e colaboradores (2003) também demonstraram que o tratamento com agmatina produzia um efeito antidepressivo “in vivo” e neuroprotetor “in vitro”. O tratamento de células PC12 com agmatina protegeu da morte celular contra a toxicidade do NMDA. Após o tratamento com agmatina, os níveis de Ca^{2+} intracelular induzido pelo NMDA foram reduzidos, além de provocar a diminuição do conteúdo de monoaminas (incluindo norepinefrina, epinefrina ou dopamina)

nas células PC12. Os autores sugerem que a ação antidepressiva “in vivo” da agmatina pode estar relacionada com a modulação da atividade do receptor NMDA, como anteriormente demonstrado por Zomkowski et al. (2002), e/ou a diminuição dos conteúdos da monoamina e da sobrecarga de Ca^{2+} induzida por NMDA (Li et al., 2003).

1.5. MODELOS EXPERIMENTAIS DE DEPRESSÃO

Os modelos animais de depressão comumente usados são diversos e foram desenvolvidos baseados nas conseqüências comportamentais do estresse, drogas, lesão ou manipulações genéticas (Cryan et al., 2002). Eles têm sido ferramentas indispensáveis na identificação de novas drogas antidepressivas. Os modelos animais de depressão também são úteis para contribuir na compreensão da neuropatologia da depressão (Cryan et al., 2002).

Uma nova abordagem a estes modelos surgiu com a proposta do modelo de desamparo aprendido, feita por Martin Seligman e Steven Maier, em 1967 (Guimarães, 1999). Um modelo bastante empregado, e que guarda semelhança com o desamparo aprendido, é o teste do nado forçado (TNF) (Porsolt et al., 1977), ou “desespero comportamental” que é comumente usado para detectar drogas com propriedades antidepressivas. Neste teste, os animais são submetidos a um período de nado forçado em um espaço restrito, uma situação inescapável de estresse. Os animais executam inicialmente movimentos vigorosos na tentativa de escapar e depois de alguns minutos apresentam apenas pequenos movimentos que o impeçam de submergir, adotando uma postura de imobilidade

(Porsolt et al., 1977). Os antidepressivos agem reduzindo o tempo de imobilidade dos animais.

Embora, os modelos animais de depressão possam não refletir exatamente a sintomatologia da depressão em humanos, mas parecem ter um alto valor na investigação de drogas antidepressivas (Willner, 1984). Alguns compostos com propriedades antidepressivas, podem produzir resultados falsos positivos neste teste, por aumentarem a atividade locomotora (Willner, 1984; Borsini e Meli, 1988). Desta forma, para se excluir a possibilidade que o efeito antidepressivo de uma determinada droga que esteja sendo investigada, seja devido a um aumento da atividade locomotora, os animais devem também ser submetidos ao teste do campo aberto.

2. JUSTIFICATIVA

Os trabalhos anteriores permitem fazer as seguintes considerações: a) a agmatina possui alta afinidade sobre os receptores α_2 -adrenérgicos e imidazólicos (Li et al., 1994; Reis e Regunathan, 2000; Raasch et al., 2001); b) a administração aguda de agmatina (i.p. e i.c.v.) produziu efeito antidepressivo no TNF e TSC, sem alterar a atividade locomotora (Zomkowski et al., 2002;); c) o efeito antidepressivo da agmatina foi dependente do bloqueio do receptor NMDA e do envolvimento de receptores α_2 -adrenérgicos (Zomkowski et al., 2002); d) após administração (via oral e subcutânea) durante 3 dias, altas concentrações de agmatina produziram um efeito antidepressivo (Li et al., 2003); e) em ensaios utilizando células PC12 (“in vitro”), a agmatina apresentou um efeito citoprotetor, possivelmente devido ao bloqueio de receptores NMDA (Li et al., 2003).

Assim, este trabalho pretende avaliar o envolvimento dos receptores imidazólicos e α_2 -adrenérgicos na atividade antidepressiva da administração aguda de agmatina. Também será avaliado se a administração crônica de agmatina produz efeito antidepressivo. A compreensão das vias e mecanismos responsáveis pela ação dos antidepressivos pode contribuir substancialmente

para o entendimento dos transtornos depressivos e para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o seu tratamento (Wong e Licínio, 2001).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Investigar o mecanismo de ação antidepressiva da agmatina após administração aguda e crônica.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar o envolvimento de receptores imidazólicos e α_2 -adrenérgicos no efeito antidepressivo da agmatina, administrada agudamente, no teste do nado forçado;

- Verificar se o tratamento crônico com agmatina produz efeito antidepressivo no TNF.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. DROGAS E REAGENTES

Neste trabalho foram utilizados os seguintes compostos: agmatina, ioimbina e fluoxetina (Sigma Chemicals Co., USA); antazolina, clonidina, efaroxan, idazoxan (Tocris, USA); MK-801 (RBI, USA) e moxonidina (Ely Lilly, Espanha). Antazolina, efaroxan, idazoxan e moxonidina foram gentilmente fornecidos pelo Dr. Antonio G. Garcia e Dra. Manuela G. López, do Departamento de Farmacologia da Universidade Autônoma de Madrid (Madri, Espanha).

4.2. ANIMAIS E TRATAMENTO

Foram utilizados camundongos Swiss de ambos os sexos, pesando 30-40 g (60-80 dias de idade) mantidos com acesso livre à água e comida, em ciclo claro/escuro de 12/12 horas (07:00 - 19:00 horas, luzes ligadas) em temperatura de 22-27°C. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Todas as observações foram feitas entre 09:00 e

16:00 horas, e cada animal foi utilizado somente uma vez. Todos os procedimentos utilizados foram aprovados pela Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA), da UFSC.

As drogas utilizadas foram diluídas em salina e administradas nos animais pela via intraperitoneal (i.p.) em um volume de 10 ml/kg de peso corporal (Eckeli et al., 2000).

O tratamento agudo consistiu da administração de agmatina na dose de 10 mg/kg (i.p.), escolhida segundo os resultados obtidos por Zomkowski et al. (2002). Esta dose foi utilizada nos experimentos nos quais foi verificada a reversão do efeito antidepressivo da agmatina (item 4.4.1.). Alternativamente, foi utilizada uma dose sub-ativa de agmatina (0,001 mg/kg, i.p.) em experimentos nos quais foi analisado um possível efeito antidepressivo sinérgico da agmatina com agonistas ou antagonistas farmacológicos (itens 4.4.2.; 4.4.3 e 4.4.4.).

O tratamento crônico consistiu da administração de salina (grupo controle), agmatina (0,1; 0,3; 1 e 3 mg/kg, i.p.) ou fluoxetina (5 mg/kg, i.p.) durante 21 dias. Estas doses foram selecionadas de acordo com os resultados publicados por Lee et al. (2001) e Shirayama et al. (2002).

4.3. TESTES COMPORTAMENTAIS

Para verificar a atividade antidepressiva da agmatina, os animais foram submetidos aos seguintes testes comportamentais:

4.3.1. TESTE DO NADO FORÇADO

O tempo de imobilidade dos camundongos foi avaliado durante um período de 6 minutos, em um cilindro plástico de 10 cm de diâmetro e 24 cm de altura contendo 19 cm de altura de água a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ de acordo com o método descrito por Porsolt et al. (1977).

4.3.2. TESTE DO CAMPO ABERTO

Este teste foi aplicado nos animais que receberam tratamento crônico, com a finalidade de excluir a possibilidade de que uma diminuição do tempo de imobilidade no TNF (efeito antidepressivo), seja devido a um aumento na atividade locomotora. Os camundongos foram submetidos a uma sessão no teste do campo aberto, como descrito por Rodrigues et al. (1996).

O teste foi realizado em caixa de madeira medindo 40x60x50 cm, com o fundo dividido em 12 quadrados iguais. A parte frontal da caixa é de vidro, para facilitar o trabalho do observador. O número de quadrados cruzados com todas as patas corresponde aos cruzamentos e é um parâmetro usado para avaliar a atividade locomotora. Cada sessão teve duração de 6 minutos (Rodrigues et al., 1996).

4.4. ANÁLISE DO MECANISMO DE AÇÃO ANTIDEPRESSIVA DA AGMATINA ADMINISTRADA AGUDAMENTE

Com o objetivo de verificar o envolvimento dos receptores imidazólicos e α_2 -adrenérgicos na atividade antidepressiva da agmatina no TNF, foram feitas as seguintes abordagens:

4.4.1 AVALIAÇÃO DO ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES IMIDAZÓLICOS NA AÇÃO ANTIDEPRESSIVA DA AGMATINA

Com a finalidade de verificar o efeito de antagonistas de receptores imidazólicos sobre a ação antidepressiva da agmatina, os animais foram pré-tratados com salina, efaroxan (1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos; French, 1995; Martel et al., 1998), idazoxan (0,06 mg/kg, i.p., antagonista de receptores imidazólicos I_2 e α_2 -adrenérgicos; Raasch et al., 1999; Martel et al., 1998), e antazolina (5 mg/kg, i.p., ligante imidazólico com alta afinidade por I_2 (Raasch et al., 1999) e com ação antagonista em receptores NMDA e histaminérgicos H_1 (Milhaud et al., 2000). Depois de 30 minutos, os animais foram tratados com salina ou agmatina (10 mg/kg, i.p.). Após 30 minutos do tratamento, os animais foram submetidos ao teste do nado forçado (TNF).

4.4.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO SINÉRGICO ENTRE AGMATINA E AGONISTAS IMIDAZÓLICOS I_1 E α_2 -ADRENÉRGICOS

Para verificar um possível efeito antidepressivo sinérgico entre a agmatina e clonidina (agonista de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos; Piletz et al., 2003) e entre agmatina e moxonidina (agonista de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos; Ernsberger et al., 1993), os animais foram pré-tratados com salina ou com uma dose sub-ativa de agmatina (0,001 mg/kg, i.p.). Após 20 minutos, os animais receberam injeção intraperitoneal de doses sub-ativas de clonidina (0,06 mg/kg; Redrobe e Bourin, 1998) ou de moxonidina (0,5 mg/kg). Após 30 minutos, os animais foram submetidos ao TNF.

4.4.3. AVALIAÇÃO DO ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES α_2 -ADRENÉRGICOS NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO SINÉRGICO DA AGMATINA E CLONIDINA

Com o objetivo de verificar a possível reversão do efeito antidepressivo sinérgico entre agmatina e clonidina, pela ioimbina (um antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos; Piletz et al., 1996), os animais foram pré-tratados com salina ou ioimbina (1 mg/kg, i.p.).

Após 20 minutos, os animais receberam injeções intraperitoneais contralaterais de salina ou agmatina (0,001 mg/kg) e clonidina (0,06 mg/kg). Decorridos 30 minutos, os animais foram submetidos ao TNF.

4.4.4. AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO SINÉRGICO ENTRE AGMATINA OU MK- 801 COM LIGANTES IMIDAZÓLICOS

Para verificar a possibilidade de um efeito antidepressivo sinérgico da agmatina ou MK-801 com ligantes imidazólicos no TNF, os animais receberam injeções intraperitoneais contralaterais de salina, agmatina (0,001 mg/kg, i.p.) ou MK-801 (0,001 mg/kg, i.p.; antagonista não competitivo de receptores NMDA; Milhaud et al., 2000) com antazolina (5 mg/kg, i.p.; ligante imidazólico, com alta afinidade por receptores I_2 e com ação antagonista em receptores NMDA) ou efaroxan (1mg/kg, i.p.; antagonista de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos). Após 30 minutos do tratamento, os animais foram submetidos ao TNF.

Com o objetivo de verificar um possível efeito antidepressivo sinérgico entre a agmatina e MK-801, e confirmar que esta ação ocorre pelo bloqueio dos receptores NMDA, os animais foram pré-tratados com salina ou dose sub-ativa de agmatina (0,001 mg/kg, i.p.). Decorridos 20 minutos, os animais foram tratados com MK-801 em dose sub-ativa (0,001 mg/kg., i.p.). Após 30 minutos, os animais foram submetidos ao TNF.

4.5. EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM AGMATINA

Com a finalidade de investigar o efeito antidepressivo da agmatina quando administrada cronicamente, os animais foram divididos em 6 grupos experimentais e receberam durante 21 dias consecutivos, injeções diárias de salina (grupo controle), agmatina (0,1; 0,3; 1 e 3 mg/kg, i. p.) ou fluoxetina (5 mg/kg, i.p.; Lee et al., 2001; Shirayama et al., 2002). Após 24 horas da última injeção, os animais foram submetidos ao TNF ou TCA.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, conforme o protocolo experimental, seguido do teste *post-hoc* de Duncan, quando apropriado. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. INIBIÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA AGMATINA POR ANTAGONISTAS DE RECEPTORES IMIDAZÓLICOS

A Figura 1 mostra o efeito do pré-tratamento com efaroxan (1A, 1 mg/kg, i.p., antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos e imidazólicos I_1), idazoxan (1B, 0,06 mg/kg, i.p., antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos e imidazólicos I_2) e antazolina (1C, 5 mg/kg, i.p., ligante de receptores imidazólicos I_2 e antagonista de receptores NMDA) na redução do tempo de imobilidade provocada pela agmatina (10 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento [$F(3,42) = 5,89$; $p < 0,01$], do tratamento [$F(1,42) = 16,73$; $p < 0,01$]; bem como da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(3,42) = 7,50$; $p < 0,01$]. O teste *post hoc* indicou que o efaroxan, o idazoxan e a antazolina reverteram o efeito antidepressivo da agmatina.

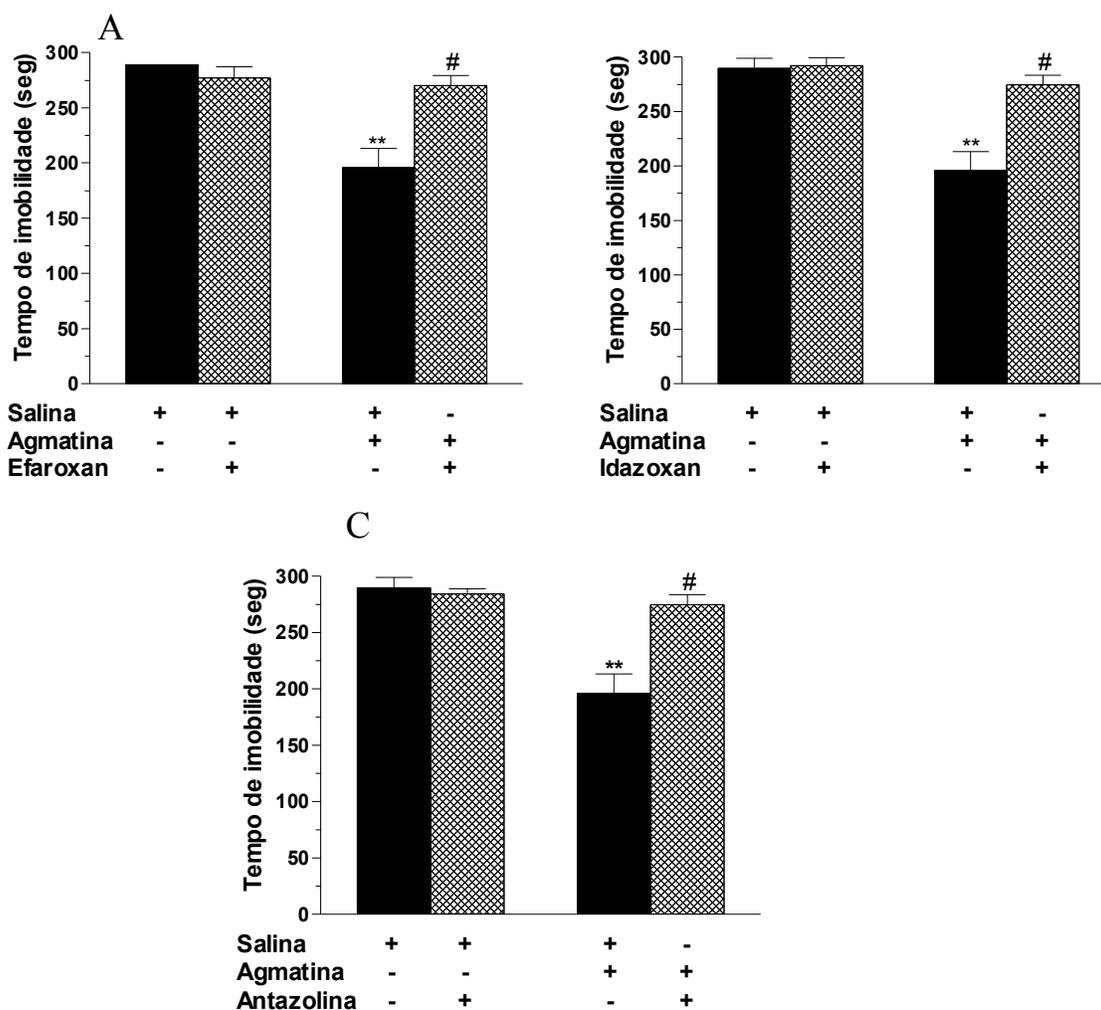


Figura 1. Efeito do pré-tratamento dos animais com (A) efaroxan (1 mg/kg, i.p.), (B) idazoxan (0,06 mg/kg, i.p.) e (C) antazolina (5 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade causada pela agmatina (10 mg/kg, i.p.) no TNF. Os resultados estão expressos como média + e.p.m. (n = 6-8). **p<0,01 em

relação ao grupo controle (salina/salina), # $p < 0,01$ em relação ao grupo salina/agmatina.

5.2. EFEITO ANTIDEPRESSIVO SINÉRGICO ENTRE AGMATINA E AGONISTAS DE RECEPTORES IMIDAZÓLICOS I_1 E α_2 -ADRENÉRGICOS

O efeito do pré-tratamento com agmatina (0,001 mg/kg, i.p., dose sub-ativa no TNF) na redução do tempo de imobilidade de doses sub-ativas de clonidina (0,06 mg/kg, i.p., agonista de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos) ou moxonidina (0,5 mg/kg, i.p., agonista de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos) no TNF está mostrado na Figura 2. A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento [$F(1,39) = 46,6$; $p < 0,01$], do tratamento [$F(2,39) = 9,15$; $p < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(2,39) = 11,4$; $p < 0,01$]. O teste *post hoc* indicou que ocorreu efeito antidepressivo sinérgico entre agmatina/clonidina e agmatina/moxonidina no TNF.

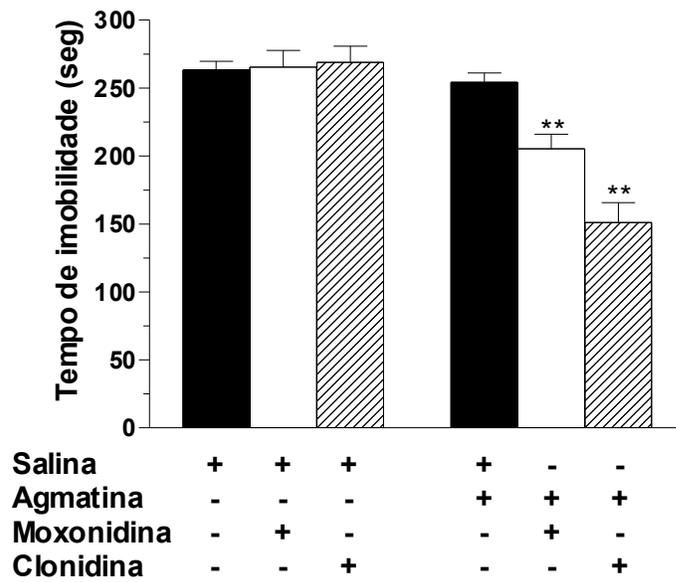


Figura 2. Efeito antidepressivo sinérgico da agmatina (0,001 mg/kg, i.p.) com clonidina (0,06 mg/kg, i.p.) ou moxonidina (0,5 mg/kg, i.p.) no TNF. Os valores estão expressos como média + e.p.m. (n = 8). ** p<0,01 em relação ao grupo agmatina/salina.

5.3. REVERSÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO SINÉRGICO DA AGMATINA E CLONIDINA POR ANTAGONISTA DE RECEPTORES α_2 -ADRENÉRGICOS

A Figura 3 mostra o efeito do pré-tratamento com ioimbina (1 mg/kg,i.p., antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos) ou com salina sobre o tempo de imobilidade dos animais tratados com agmatina (dose sub-ativa 0,001 mg/kg, i.p.) e clonidina (dose sub-ativa 0,06 mg/kg, i.p., agonista de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos). A ANOVA de duas vias revelou um efeito significativo do pré-tratamento [$F(1,21) = 0,74$ $p = 0,39$], do tratamento [$F(1,21) = 16,09$ $p < 0,01$] e da interação entre o pré-tratamento e o tratamento [$F(1,21) = 11,27$ $p < 0,01$]. O teste *post hoc* indicou que o efeito antidepressivo sinérgico da agmatina/clonidina foi revertido pelo pré-tratamento com ioimbina.

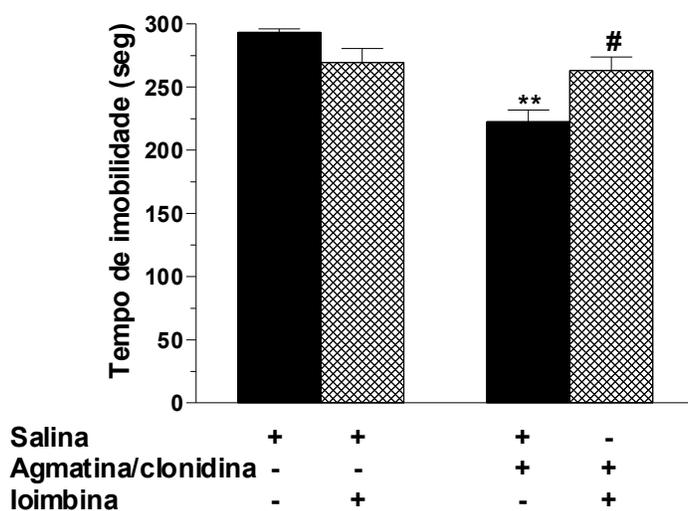


Figura 3. Efeito do pré-tratamento dos animais com ioimbina (1 mg/kg, i.p.) sobre a redução do tempo de imobilidade causada pela agmatina (0,001 mg/kg,

i.p.) com clonidina (0,06 mg/kg, i.p.) no TNF. Os resultados estão expressos como média + e.p.m. (n = 5-8) **p<0,01 em relação ao grupo salina; # p<0,01 quando comparado com os animais tratados com salina/agmatina + clonidina.

5.4. ESTUDO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO SINÉRGICO ENTRE A AGMATINA E O MK-801 COM LIGANTES IMIDAZÓLICOS

Na Figura 4 pode ser observado o efeito antidepressivo sinérgico do tratamento dos animais com salina, ou agmatina (0,001 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) ou MK-801 (0,001 mg/kg, i.p., dose sub-ativa), administrados com efaroxan (1 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) ou antazolina (5 mg/kg, i.p., dose sub-ativa), na redução do tempo de imobilidade no TNF. A ANOVA de uma via revelou um efeito significativo do tratamento [$F(9,50) = 6,44, p < 0,01$]. O teste *post hoc* indicou apenas um efeito antidepressivo sinérgico entre MK-801 e antazolina no TNF.

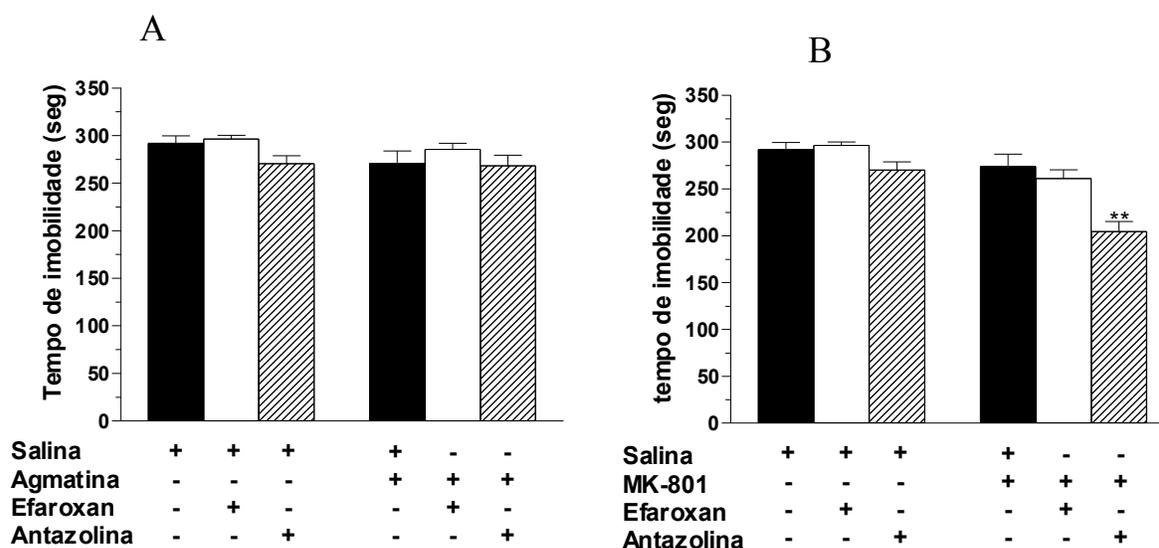


Figura 4. (A) Efeito antidepressivo sinérgico da agmatina (0,001 mg/kg, i.p.) com efaroxan (1 mg/kg, i.p.) ou antazolina (5 mg/kg, i.p.); (B) do MK-801 (0,001 mg/kg, i.p.) com efaroxan (1 mg/kg, i.p.) ou antazolina (5 mg/kg, i.p.) no TNF. Os

valores estão expressos como média + e.p.m. (n = 6). **p<0,01 quando comparado com o grupo salina/MK-801.

Na Figura 5 pode ser observado o efeito sinérgico do tratamento dos animais com agmatina (0,001 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) e MK-801 (0,001 mg/kg, i.p., dose sub-ativa) na redução do tempo de imobilidade no TNF. A ANOVA de uma via revelou um efeito significativo do tratamento [$F(3,23) = 15,36$; $p < 0,01$]. O teste *post hoc* indicou que ocorreu efeito antidepressivo sinérgico entre agmatina e MK-801 no TNF.

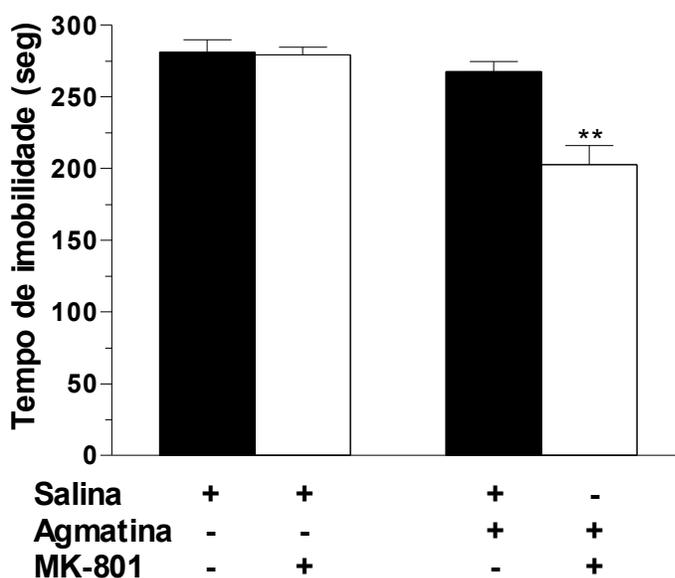


Figura 5. Efeito antidepressivo sinérgico da agmatina (0,001 mg/kg, i.p.) e MK-801 (0,001 mg/kg, i.p.) no TNF. Os valores estão expressos como média + e.p.m. (n=6-8). **p<0.01 em relação aos grupos salina/salina, salina/MK-801 e agmatina/salina.

5.5. EFEITO ANTIDEPRESSIVO DA AGMATINA ADMINISTRADA CRONICAMENTE

A Figura 6 mostra o efeito do tratamento crônico durante 21 dias com salina, agmatina (0,1; 0,3; 1 e 3 mg/kg, i.p.) e fluoxetina (5 mg/kg, i.p.) no TNF. A ANOVA de uma via revelou um efeito significativo do tratamento [$F(5,47) = 3,04, p < 0,05$]. O teste *post hoc* indicou um efeito antidepressivo da agmatina administrada cronicamente nas doses 0,3; 1 e 3 mg/kg e fluoxetina (5 mg/kg, i.p.) no TNF.

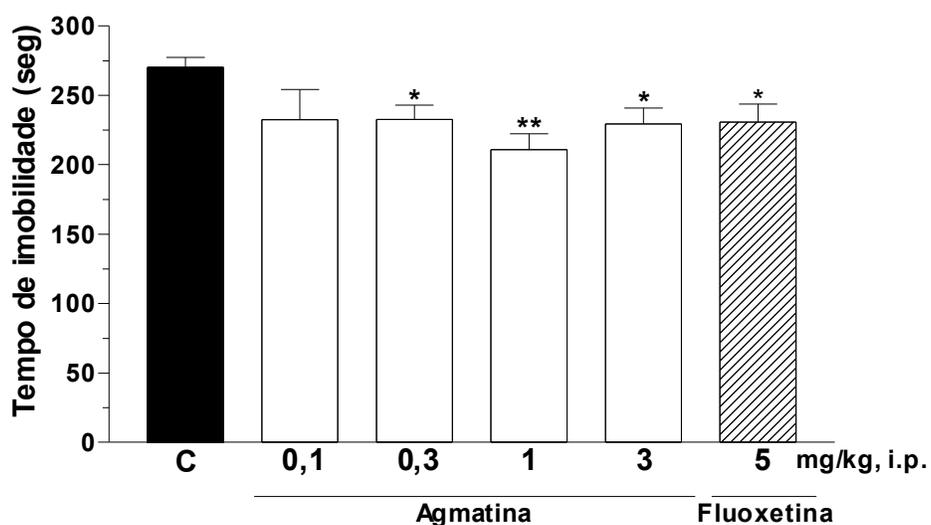


Figura 6. Efeito do tratamento crônico (21 dias) com agmatina (0,1 a 3 mg/kg, i.p.) e fluoxetina (5 mg/kg, i.p.), na redução do tempo de imobilidade no TNF. Os valores estão expressos como média + e.p.m. (n = 5-8). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, quando comparados com o grupo salina (controle, C).

5.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MOTORA DE ANIMAIS TRATADOS CRONICAMENTE COM AGMATINA

A Figura 7 mostra que a agmatina (0,1; 0,3; 1 e 3 mg/kg, i.p.) administrada cronicamente durante 21 dias, não provocou alteração na atividade locomotora dos animais, quando avaliados no teste do campo aberto (TCA), uma vez que a ANOVA de uma via indicou o seguinte resultado [$F(5,30) = 0,69$; $p = 0,63$].

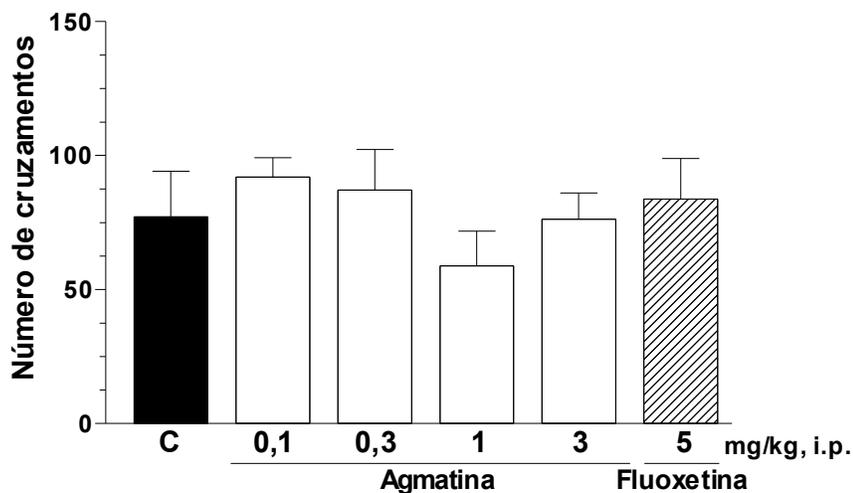


Figura 7. Efeito do tratamento crônico (21 dias) com agmatina (0,1 a 3 mg/kg, i.p.) e fluoxetina (5 mg/kg., i.p.) no número de cruzamentos no teste do campo aberto (TCA). Os animais foram submetidos ao teste, 24 horas após a última injeção de agmatina ou fluoxetina. Os valores estão expressos como média + e.p.m. (n = 5-7) ($p = 0,63$) quando comparado com o grupo controle tratado com salina (C).

6. Discussão

Neste estudo, a agmatina apresentou um efeito antidepressivo no teste do nado forçado (TNF) após administração aguda e crônica (21 dias), o que está de acordo com os resultados anteriores obtidos por Zomkowski et al. (2002) e Li et al. (2003). Zomkowski e colaboradores (2002) demonstraram pela primeira vez, que o tratamento agudo de camundongos com agmatina (por via intraperitoneal ou intracerebroventricular) produziu um efeito antidepressivo no teste do nado forçado (TNF). Posteriormente, Li et al. (2003) mostraram que o tratamento por via oral ou subcutâneo com agmatina durante três dias produziu um efeito antidepressivo no TNF.

O TNF é um modelo amplamente utilizado e aceito para testar novas drogas antidepressivas, porque é sensível a todas as principais classes de drogas, como os antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da recaptação de serotonina e inibidores da MAO (Porsolt et al., 1977; Steru et al., 1985). Além disso, este teste apresenta grande reprodutibilidade e é de fácil aplicabilidade (Cryan et al., 2002). No TNF, os animais são submetidos a um período de nado forçado em um espaço restrito, uma situação inescapável de estresse. Os animais executam inicialmente movimentos vigorosos na tentativa de escapar e depois de alguns minutos apresentam apenas pequenos movimentos que o impeçam de submergir, adotando uma postura de imobilidade (Porsolt et al., 1977). Os antidepressivos reduzem o tempo de imobilidade dos animais (Porsolt et al., 1977; Steru et al., 1985).

Os modelos animais de depressão não refletem exatamente a sintomatologia da depressão em humanos, mas eles tem um alto valor na investigação de drogas antidepressivas e ainda vários estudos mostraram que sua efetividade se correlaciona significativamente com o potencial clínico destas drogas (Willner, 1984).

O TNF foi o teste escolhido para avaliar o mecanismo de ação da agmatina, neste estudo, utilizando agonistas e antagonistas farmacológicos. O teste do campo aberto (TCA) foi utilizado neste trabalho para verificar se a agmatina administrada cronicamente provocava alteração na atividade locomotora.

As drogas que aumentam a atividade locomotora podem produzir resultados positivos no TNF e seriam rejeitados como antidepressivos. No entanto algumas drogas como o bupropion, nomifensina e amineptina são antidepressivos utilizados na clínica, e aumentam a atividade locomotora dos animais (Borsini e Meli, 1988). Neste estudo, o efeito antidepressivo da agmatina administrada cronicamente não está associado a nenhum efeito motor, pois as doses em que a agmatina demonstrou atividade antidepressiva não afetaram significativamente a locomoção no teste do campo aberto. Este resultado indica que o efeito antidepressivo induzido pela agmatina é específico. Este resultado é semelhante ao obtido por Zomkowski et al. (2002) após administração aguda de agmatina.

Zomkowski et al. (2002) mostraram que o efeito antidepressivo da agmatina é dependente do bloqueio do receptor NMDA e da inibição da NOS, além de envolver interação com receptores α_2 -adrenérgicos. O presente estudo se propôs a ampliar estes dados testando a hipótese do envolvimento de receptores

imidazólicos e reforçando com resultados o envolvimento dos receptores α_2 -adrenérgicos no efeito antidepressivo da agmatina no TNF.

Para avaliar o envolvimento de receptores imidazólicos e α_2 -adrenérgicos no efeito antidepressivo da agmatina, foram utilizados os seguintes antagonistas: efaroxan (antagonista de receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos; French, 1995; Martel et al., 1998), idazoxan (antagonista de receptores imidazólicos I_2 e α_2 -adrenérgicos; Raasch et al., 1999; Martel et al., 1998) e antazolina (ligante imidazólico com afinidade preferencial por I_2 (Raasch et al., 1999) e antagonista de receptores NMDA [Milhaud et al., 2000]).

O efaroxan, foi capaz de reverter o efeito antidepressivo da agmatina no TNF. Vários trabalhos têm demonstrado que a agmatina possui alta afinidade pelos receptores α_2 -adrenérgicos e pelos receptores imidazólicos I_1 e I_2 (Li et al., 1994; Reis e Regunathan, 2000; Raasch et al., 2001). Desta forma, a reversão do efeito antidepressivo da agmatina pelo efaroxan poderia estar ocorrendo tanto por interação com os receptores I_1 imidazólicos quanto com os α_2 -adrenérgicos. Tem sido postulado que receptores imidazólicos, entre outras funções, possam atuar modulando a depressão e a nocicepção (Boronat et al., 1998; Halaris e Piletz, 2001). Estudos realizados em pacientes com depressão unipolar têm revelado um aumento de receptores imidazólicos I_1 em plaquetas (Halaris et al., 1999).

Este estudo demonstrou que o idazoxan, também foi capaz de reverter o efeito antidepressivo da agmatina no TNF. Este resultado sugere que esta reversão possa estar ocorrendo por interação com os receptores I_2 imidazólicos e/ou α_2 -adrenérgicos. Funcionalmente o sítio de ligação I_2 tem sido caracterizado

como um regulador da enzima monoamina oxidase (MAO) e assim, poderia produzir atividade antidepressiva (Raasch et al., 2001).

No entanto, os compostos BU 224, BU 239 e BDF 8082, ligantes com afinidade seletiva para receptores I_2 , não produziram efeito antidepressivo isoladamente ou em combinação com uma dose sub-ativa de imipramina no TNF (O'Neill et al., 2001). Entretanto, Diaz et al. (1997) demonstraram que o efeito antinociceptivo induzido pelo BU 224, foi completamente revertido pelo idazoxan e apenas parcialmente revertido pela ioimbina (antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos). Outro estudo mostrou que o efeito antinociceptivo induzido pela agmatina não foi bloqueado pela ioimbina (Hou et al., 2003). Estudos recentes mostraram que a administração crônica de idazoxan em pacientes com depressão bipolar produziram uma resposta antidepressiva com 50% de redução na escala de avaliação de depressão de Hamilton (Grossman et al., 1999). Estes resultados compararam-se favoravelmente com o bupropion, que tem um papel específico no tratamento de pacientes com depressão bipolar (Potter, 1998).

O resultado obtido neste estudo, associado aos dados descritos na literatura, sugerem que a reversão do efeito antidepressivo da agmatina pelo idazoxan, provavelmente esteja ocorrendo via receptores α_2 -adrenérgicos, mas não deve ser descartada a hipótese da participação dos receptores I_2 imidazólicos. Outros experimentos poderiam vir a clarear e oferecer informações definitivas sobre o envolvimento destes receptores na atividade antidepressiva da agmatina. Talvez isto poderia ser realizado com a utilização de um antagonista específico para receptores imidazólicos I_2 , sem efeito sobre os α_2 -adrenérgicos.

Neste estudo também foi demonstrado que o pré-tratamento dos animais com antazolina reverteu o efeito antidepressivo da agmatina no TNF. Milhaud et al. (2000) demonstraram que a antazolina, além de ter afinidade sobre receptores imidazólicos I₂, pode bloquear não competitivamente os receptores NMDA em cultura de neurônios cerebelares. Desta forma, a reversão do efeito antidepressivo da agmatina pela antazolina no TNF, sugere a participação de receptores imidazólicos nesta reversão, assim como o envolvimento de receptores NMDA.

Portanto, o conjunto destes resultados sugere que a reversão do efeito antidepressivo da agmatina induzido pelo efaroxan, idazoxan e antazolina, possa estar ocorrendo pela interação com os receptores imidazólicos, α_2 -adrenérgicos, bem como os NMDA.

Com o objetivo de investigar o envolvimento dos receptores α_2 -adrenérgicos e receptores imidazólicos, foi realizado um experimento para avaliar o efeito antidepressivo sinérgico da agmatina utilizando dois agonistas de receptores I₁ imidazólicos e α_2 -adrenérgicos, a clonidina e a moxonidina. Os resultados mostraram um efeito antidepressivo sinérgico destes agonistas com a agmatina. Deve ser ressaltado que o efeito antidepressivo sinérgico da agmatina com a clonidina foi melhor do que o da agmatina com a moxonidina. A clonidina, um agonista com alta afinidade por receptores α_2 -adrenérgicos, também possui afinidade quase equivalente para receptores imidazólicos I₁. A moxonidina possui aproximadamente 40 vezes mais afinidade aos receptores imidazólicos I₁ do que aos receptores α_2 -adrenérgicos. Entretanto, a clonidina é apenas quatro vezes mais seletiva para receptores I₁ imidazólicos, quando comparado aos α_2 -

adrenérgicos (Ernrsberger et al., 1993). Com base nestas afinidades, seria esperado que a moxonidina atuasse preferencialmente em receptores I_1 imidazólicos e se apresentasse aproximadamente duas a três vezes menos potente que a clonidina (Shannon e Lutz, 2000).

O envolvimento de receptores α_2 -adrenérgicos na fisiopatologia da depressão é reforçado pelo fato de que os antagonistas destes receptores possuem um maior efeito em indivíduos com depressão do que em indivíduos normais, aumentando a atividade do eixo hipófise-pituitária-adrenal (HPA), o que sugere uma hipersensibilidade dos receptores α_2 -adrenérgicos pós-sinápticos em indivíduos deprimidos (Price et al., 1986). O envolvimento de receptores α_2 -adrenérgicos na depressão apresentam resultados aparentemente contraditórios, demonstrando alterações tanto de diminuição como de aumento da densidade destes receptores (Piletz et al., 1994).

Para confirmar a participação dos receptores α_2 -adrenérgicos na atividade antidepressiva da agmatina no TNF, um outro experimento foi realizado e os resultados mostraram que o efeito antidepressivo sinérgico da agmatina/clonidina foi revertido pela ioimbina (antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos). Estes dados estão de acordo com os resultados obtidos por Zomkowski et al. (2002), os quais demonstraram que a redução no tempo de imobilidade induzida pela agmatina no TNF foi prevenida pela ioimbina, indicando o envolvimento de receptores α_2 -adrenérgicos na sua ação. A clonidina reduziu o tempo de imobilidade de camundongos no TNF e o seu efeito antidepressivo foi bloqueado pela ioimbina, por um efeito mediado por receptores α_2 -adrenérgicos (O'Neill et al., 2001). Yesilyurt e Uzbay (2001) em estudo recente mostraram que a

capacidade da agmatina em potencializar o efeito analgésico induzido pela morfina, foi também bloqueado pela ioimbina, indicando que, também neste caso, a agmatina atua por um mecanismo mediado por receptores α_2 -adrenérgicos. Além disso, Onal e Soykan (2001) também demonstraram que a ioimbina foi capaz de bloquear o efeito analgésico da agmatina, na segunda fase do teste da formalina em camundongos. Também, Demehri et al. (2003) demonstraram que a ioimbina bloqueou o efeito anticonvulsivo produzido pela agmatina. Lavinsky et al. (2003) demonstraram que a agmatina (20 - 40 mg/kg, via oral) produziu um efeito ansiolítico moderado através da ativação receptores α_2 -adrenérgicos. Grossman et al. (1999) realizaram um estudo sobre a utilização de antagonistas de receptores α_2 -adrenérgicos para o tratamento da depressão bipolar.

Pela análise dos resultados, parece mais evidente a participação dos receptores α_2 -adrenérgicos na atividade antidepressiva da agmatina no TNF. Entretanto, não se pode descartar a possibilidade da agmatina estar atuando, pelo menos em parte, também sobre receptores imidazólicos I_1 .

A ausência de efeito antidepressivo sinérgico da agmatina com o efaroxan, ambos administrados em doses sub-ativas, pode ser devido ao fato do efaroxan atuar como antagonista em receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos, ao contrário da agmatina que parece atuar como um agonista nestes receptores.

Os resultados deste estudo também mostraram que não houve um efeito antidepressivo sinérgico nos animais tratados simultaneamente com agmatina e antazolina no TNF. Por outro lado, um efeito antidepressivo sinérgico entre o MK-801, antagonista não competitivo de receptores NMDA, e a antazolina foi observado. Algumas hipóteses poderiam sugerir explicações para a ausência de

efeito sinérgico entre a agmatina e a antazolina no TNF: a) estes ligantes estariam atuando em sítios modulatórios diferentes no receptor NMDA; b) as doses utilizadas poderiam não ter sido suficientes para fornecer uma resposta efetiva. Vale ressaltar que a ausência deste sinergismo também foi observada em um grupo independente de animais que foram pré-tratados com antazolina 20 minutos antes da administração de agmatina (dados não mostrados).

O efeito antidepressivo sinérgico da agmatina com MK-801, administrados em doses sub-ativas, reforça a hipótese da inibição dos receptores NMDA como um mecanismo da ação antidepressiva da agmatina no TNF. Este resultado estende os dados obtidos por Zomkowski et al (2002) que indicaram a participação destes receptores na ação antidepressiva desta amina. Nesse estudo, não foi observado um efeito aditivo da agmatina e MK-801. Como a agmatina foi administrada em dose ativa (10 mg/kg, i.p.) antes do MK-801 (0,01 mg/kg, i.p.), ela poderia ter bloqueado o receptor NMDA, impedindo a ligação do MK-801 dentro do canal. Portanto, poderia se esperar, neste protocolo experimental, que o efeito antidepressivo aditivo ou sinérgico não fosse observado. É bem conhecido que o MK-801 liga-se ao receptor NMDA ativado (Javitt e Zukin, 1989), agindo em um sítio localizado dentro do poro do canal, de forma semelhante ao demonstrado para a agmatina (Yang e Reis, 1999). Nossos resultados reforçam a idéia de que a agmatina pode exercer seu efeito antidepressivo por bloquear a ativação do receptor NMDA.

De modo geral os efeitos terapêuticos das drogas antidepressivas se tornam evidentes apenas após a administração continuada por cerca de 3 a 6 semanas (Yadid et al., 2000; Wong e Licínio, 2001; Nowak et al., 2003). Como

consequência, um dos efeitos indesejados do tratamento prolongado é a tolerância que estes compostos podem apresentar. Assim, foi realizado um experimento para verificar se a administração crônica de agmatina, assim como os antidepressivos, poderia reduzir o tempo de imobilidade dos animais no TNF.

Neste experimento, foi utilizado como controle positivo, um inibidor da recaptação de serotonina, a fluoxetina, um dos agentes terapêuticos mais freqüentemente usados. Em estudo recente, o uso crônico de antidepressivos provocou modificações morfológicas em diversos sistemas cerebrais (Santarelli et al., 2003). Graeff e Guimarães (1996) mostraram que o uso prolongado de antidepressivos produz várias alterações no sistema serotoninérgico.

Os resultados deste trabalho revelaram que o tratamento dos camundongos por 21 dias consecutivos com agmatina nas doses 0,3; 1 e 3 mg/kg (i.p.) e fluoxetina (5 mg/kg i.p.) produziram reduções significativas no tempo de imobilidade no TNF. Embora a agmatina administrada cronicamente tenha manifestado efeito antidepressivo nas doses de 0,3, 1 e 3 mg/kg, i.p., a maior redução do tempo de imobilidade dos camundongos no TNF foi observada na dose 1 mg/kg, apresentando uma curva dose-resposta em forma de "U". Li et al. (2003) demonstraram que animais pré-tratados (por via oral e subcutânea) durante três dias com altas concentrações de agmatina apresentaram redução na imobilidade no TSC e no TNF. Estes autores também mostraram que o efeito antidepressivo da agmatina foi dependente da dose em forma de "U" e não afetou a atividade locomotora (Li et al., 2003). A administração aguda de agmatina também mostrou um efeito antidepressivo dependendo da dose em forma de "U" no TSC (Zomkowski et al., 2002).

Como conclusão deste estudo, foi confirmada a participação dos receptores α_2 -adrenérgicos e dos receptores NMDA, no efeito antidepressivo da agmatina, embora também não possa ser descartado o possível envolvimento de receptores imidazólicos. Além disso, estes resultados confirmam e estendem os dados existentes na literatura, mostrando que a agmatina administrada cronicamente apresenta um efeito antidepressivo. Estes dados ainda fornecem subsídios para que novos mecanismos do efeito antidepressivo da agmatina sejam investigados.

7. CONCLUSÕES

- A administração aguda de agmatina produz efeito antidepressivo no teste do nado forçado em camundongos, que foi revertido pelo efaroxan e idazoxan, indicando o envolvimento de receptores imidazólicos e α_2 -adrenérgicos;
- O efeito antidepressivo da agmatina foi revertido pela antazolina, sugerindo a participação de receptores imidazólicos e de NMDA;
- A redução do tempo de imobilidade induzida pela administração de agmatina/clonidina e agmatina/moxonidina, indicam a participação dos receptores imidazólicos I_1 e α_2 -adrenérgicos;
- O efeito antidepressivo sinérgico da agmatina/clonidina foi revertido pela ioimbina, indicando o envolvimento de receptores α_2 -adrenérgicos;
- A redução do tempo de imobilidade no TNF induzida pela administração de MK-801/antazolina e agmatina/MK-801, indicam o envolvimento de receptores NMDA;
- A administração crônica, durante 21 dias, de agmatina e fluoxetina produz efeito antidepressivo no TNF, sem alterar a atividade locomotora.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akhondzadeh, S. Hippocampal synaptic plasticity and cognition. **J. Clin. Pharm. Ther.**, v. 24, p. 241-248, 1999.

Altar, C.A., Boylan C.B., Fritsche M., Jackson C., Hyman C., Lindsay, R.M. The neurotrophins NT-4/5 and BDNF augment serotonin, dopamine, and GABAergic systems during behaviorally effective infusions to the substantia nigra. **Exp. Neurol.**, v. 130, p. 31- 40, 1994.

Altar, C.A. Neurotrophins and depression. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 20, p. 59-61, 1999.

American Psychiatry Association. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. Washington, DC, 4^aed., 1994.

Angelucci, F., Aloe, L., Jimenez-Vasquez, P., Mathe, A.A. Electroconvulsive stimuli alter nerve growth factor but not brain-derived neurotrophic factor concentrations in brains of a rat model of depression. **Neuropeptides**, v. 37, p. 51-56, 2003.

Baldessarini, R.J. Drugs and the treatment of psychiatric disorders – depression and mania. In: Limbird, L.E., Hardman, J.G. (Eds.), **Goodman & Gilman's - The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9th Ed. McGraw-Hill, New York, pp. 431-459, 1996.

Borsini, F., Meli, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? **Psychopharmacology**, v. 94, p. 147-161, 1988.

Boronat, M.A., Olmos, G., Garcia-Sevilla, J.A. Attenuation of tolerance to opioid-induced antinociception and protection against morphine-induced decrease

of neurofilament proteins by idazoxan and I2 – imidazoline ligands. **Br. J. Pharmacol.**, v. 125, p. 175-185, 1998.

Castagnoli, K., Palmer, S., Castagnoli, N. Jr. Neuroprotection by (R)-deprenyl and 7-nitroindazole in the MPTP C57BL/6 mouse model of neurotoxicity. **Neurobiology**, v. 7, p. 135-149, 1999.

Cervo, L., Samanin, R. Potential antidepressant properties of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, a selective serotonin 1A receptor agonist. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 144, p. 223-229, 1987.

Chuang, D.M., Chen, R.W., Chalecka-Franaszek, E., Ren, M., Hashimoto, R., Senatorov, V., Kanai, H., Hough, C., Hiroi, T., Leeds, P. Neuroprotective effects of lithium in cultured cells and animal models of diseases. **Bipolar Disord.**, v. 4, p. 129-136, 2002.

Cryan, I.F., Markou, A., Lucki, I. Assessing antidepressant activity in rodents; recent development and future needs. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 23, p. 238-245, 2002.

Conti, A.C., Cryan, J.F., Dalvi, A., Lucki, I., Blendy, J.A. cAMP response element-binding protein is essential for the upregulation of brain-derived neurotrophic factor transcription, but not the behavioral or endocrine responses to antidepressant drugs. **J. Neurosci.**, v. 22, p. 3262-3268, 2002.

D'Aquila, P.S., Collu, M., Gessa, G.L., Serra, G. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 405, p. 365-373, 2000.

- Da Silva, G.L., Mateussi, A.S., Santos, A.R.S., Calixto, J.B., Rodrigues, A.L.S. Evidence for a dual effect of nitric oxide in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. **NeuroReport**, v. 11, p. 3699-3702, 2000.
- Demehri, S., Homayoun, H., Honar, H., Riazi, K., Vafaie, K., Roushanzamir, F., Dehpour, A. R. Agmatine exerts anticonvulsant effect in mice: modulation by alpha(2)-adrenoceptores and nitric oxide. **Neuropharmacology**, v. 45, p. 534-542, 2003.
- Diaz, A., Mayet, S., Dickenson, A. BU-224 produces spinal antinociception as an agonist imidazoline I₂ receptors. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 333, p. 9-15, 1997.
- Dominguez, M.I., Blasco-Ibañez, J.M., Crespo, C., Marques-Mari, A.I., Martinez-Guijarro, F.J. Zinc chelation during non-lesioning overexcitation results in neuronal death in the mouse hippocampus. **Neuroscience**, v. 116, p. 791-806, 2003.
- Duman, R.S. Synaptic plasticity and mood disorders. **Mol. Psychiatry**, v. 7 (suppl. 1:5), p. 29-34, 2002.
- Duman, R.S., Malberg, J., Nakagawa, S., D'Sa, C. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. **Biol. Psychiatry**, v. 48, p. 732-739, 2000.
- Duman, R.S., Heninger, G.R., Nestler, E.J. A molecular and cellular theory of depression. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 54, p. 597-606, 1997.
- Eckeli, A.L., Dach, F., Rodrigues, A.L.S. Acute treatments with GMP produce antidepressant-like effect in mice. **NeuroReport**, v. 11, p. 839-843, 2000.
- Elgün, S., Kumbasar, H. Increased serum arginase activity in depressed patients. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 24, p. 227-232, 2000.

- Engelhard, K., Werner, C., Eberspächer, E., Bachl, M., Blobner, M., Hildt, E., Hutzler, P., Kochs, E. The effect of the α_2 -agonist dexmedetomidine and the *N*-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosis-regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. **Anesth. Analg.**, v. 96, p. 524-531, 2003.
- Ernsberger, P., Meeley, M.P., Mann, J.J., Reis, D.J. Clonidine bind to imidazoline binding sites as well as α_2 -adrenoceptors in the ventrolateral medulla. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 134, p. 1-13, 1987.
- Ernsberger, P., Damon, T.H., Graff, L.M., Schafer, S.G., Christen, M.O. Moxonidine, a centrally acting antihypertensive agent, is a selective ligand for I_1 -imidazoline sites. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 264, p. 172-182, 1993.
- Fairbanks, C.A., Posthumus, I.J., Kitto, K.F., Stone, L.S., Wilcox, G.L. Moxonidine, a selective imidazoline/ α_2 -adrenergic receptor agonist, synergizes with morphine and deltorphin II to inhibit substance P-induced behavior in mice. **Pain**, v. 84, p. 13-20, 2000.
- Feng, Y., Halaris, A.E., Piletz, J.E. Determination of agmatine in brain and plasma using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **J. Chromatogr.**, v. 691, p. 277-286, 1997.
- Fleck, M.P.A., Lafer, B., Sougey, E.B., Porto, J.A.D., Brasil, M.A., Juruena, M.F. Guidelines of the Brazilian Medical Association for the treatment of depression (complete version). **Rev. Bras. Psiquiatria**, v. 25, p. 114-22, 2003.
- French, N. α_2 -Adrenoceptors and I_2 sites in the mammalian central nervous system. **Pharmacol. Ther.**, v. 68, p. 175-208, 1995.

Gilad, G.M., Gilad, V.H., Rabey, J.M. Arginine and ornithine decarboxylation in rodent brain - coincidental changes during development and after ischemia. **Neurosci. Lett.**, v. 216, p. 33-36, 1996.

Gilad, G.M., Gilad V.H. Accelerated funcional recovery and neuroprotection by agmatine after spinal cord ischemia in rats. **Neurosci. Lett.**, v. 296, p. 97-2100, 2000.

Graeff, F.G., Guimarães, F.S., De Andrade, T.G., Deakin, J.F. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 54, p. 129-41, 1996.

Guimarães, F.S. Medicamentos antidepressivos e estabilizadores do humor. In: Graeff, F.G. e Guimarães, F.S. (Eds.). **Fundamentos de Psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 93-122.

Greenberg, P.E., Stigli, L. E., Finkelstein, S. N., Berndt, E. R. The economic burden of depression in 1990. **J. Clin. Psychiatry**, v. 54, p. 405-418, 1993.

Grossman, F., Potter, W. Z., Brown, E. A., Maislin, G. A double-blind study comparing idazoxan and bupropion in bipolar depressed patients. **J. Affect. Disord.**, v. 56, p. 237-243, 1999.

Gupta, R.K., Tiller, J.W., Burrows, G.D. Dual action antidepressants and some important considerations. **Aust. N. Z. J. Psychiatry**, v. 37, p. 190-195, 2003.

Halaris, A., Piletz, J.E. Imidazoline receptors: Possible involvement in the pathophysiology and treatment of depression. **Human Psychopharmacol**, v. 16, p. 65-69, 2001.

Halaris A., Zhu, H., Feng, Y., Piletz J.E. Plasma agmatine and platelet imidazoline receptors in depression. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 881, p. 445-451, 1999.

- Harkin, A.J., Bruce, K.H., Craft, B., Paul, I.A. Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice 1. Acute treatments are active in the forced swim test. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 372, p. 207–213, 1999.
- Harkin, A.J., Connor, T.J., Walsh, M., St John, N., Kelly, J.P. Serotonergic mediation of the antidepressant-like effects of nitric oxide synthase inhibitors. **Neuropharmacology**, v. 44, p. 616-623, 2003.
- Hou, S.W., Qi, J. S., Zhang, K., Qiao, J.T. Spinal antinociceptive effect of agmatine and tentative analysis of involved receptors: study in an electrophysiological model of rats. **Brain Res.**, v. 968, p. 277-280, 2003.
- Javitt, D.C., Zukin, S.R. Biexponential kinetics of [3H]MK-801 binding:evidence for access to closed and open *N*-methyl-D-aspartate receptor channels. **Mol. Pharmacol.**, v. 35, p. 387-393, 1989.
- Kolesnikov, Y., Jain, S., Pasternak, G. W. Modulation of opioid analgesia by agmatine. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 296, p. 17-22, 1996.
- Krocicka, B., Branski, P., Palucha, A., Pilc, A., Nowak, G. Antidepressant-like properties of zinc in rodent forced swim test. **Brain Res. Bull.**, v. 55, p. 297-300, 2001.
- Krocicka, B., Zieba, A., Dudek, D., Pilc, A., Nowak, G. Zinc exhibits an antidepressant-like effect in forced swimming test in mice. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 52, p. 403-406, 2000.
- Kumar, A., Mintz, A., Bilker, W., Gottlieb, G. Autonomous neurobiological pathways to late-life major depressive disorder: clinical and pathophysiological implications. **Neuropsychopharmacology**, v. 26, p. 229-236, 2002.

Lavinsky, D., Arteni, N.S., Netto, C.A. Agmatine induces anxiolysis in the elevated plus maze task in adult rats. **Behav. Brain Res.**, v. 141, p. 19-24, 2003.

Levine, J., Panchalingam, K., Rapoport, A., Gershon, S., McClure, R.J., Pettegrew, J.W. Increased cerebrospinal fluid glutamine levels in depressed patients. **Biol. Psychiatry**, v. 47, p. 586-593, 2000.

Lee, H.J., Kim, J.W., Yim, S.V., Kim, M.J., Kim, S.A., Kim, C.J., Chung, J.H. Fluoxetine enhances cell proliferation and prevents apoptosis in dentate gyrus of maternally separated rats. **Mol. Psychiatry**, v. 6, p. 725-728, 2001.

Li, G., Regunathan, S., Barrow, C.J., Eshraghi, J., Cooper, R., Reis, D.J. Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. **Science**, v. 263, p. 966-969, 1994.

Li, Y.F., Gong, Z.H., Cao, J.B., Wang, H.L., Luo, Z. P., Li, J. Antidepressant-like effect of agmatine and its possible mechanism. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 469, p. 81-88, 2003.

Malcon, C., Achaval, M., Komlos, F., Partata, W., Saureissig, M., Ramirez, G. GMP protects against quinolinic acid-induced loss of NADPH-diaphorase-positive cells in the rat striatum. **Neurosci. Lett.**, v. 225, p.145-148, 1997.

Manji, H.K., Drevets, W.P., Charney D.S. The cellular neurobiology of depression. **Nature Med.**, v. 7, p. 541-547, 2001.

Mann, J.J., Kapur, S. A dopaminergic hypothesis of major depression. **Clin. Neuropharmacol.**, v. 18 (suppl I), p. 557-567, 1995.

Martel, J.C., Chopin, P., Colpaert, F., Marlen, M. Neuroprotective effects of the α_2 -adrenoceptor antagonist, (+)-idazoxan, against quinolinic acid-induced lesions of the rat striatum. **Exp. Neurol.**, v. 154, p. 595-601, 1998.

- Melena, J., Chidlow, G., Osborne, N.N. Blockade of voltage-sensitive Na(+) channels by the 5-HT(1A) receptor agonist 8-OH-DPAT: possible significance for neuroprotection. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 406, p. 319-324, 2000.
- Milhaud, D., Fagni, L., Bockaert, J., Lafon-Cazal, M. Imidazoline-induced neuroprotective effects result from blockade of NMDA receptor channels in neuronal cultures. **Neuropharmacology**, v. 39, p. 2244-2254, 2000.
- Mora, A., González-Polo, R.A., Fuentes, J.M., Soler, G., Centeno, F. Different mechanisms of protection against apoptosis by valproate and Li⁺. **Eur. J. Biochem.**, v. 266, p. 886-891, 1999.
- Musselman, D.L., Evans, D.L., Nemeroff, C.B. The relationship of depression to cardiovascular disease: epidemiology, biology, and treatment. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 55, p. 580-592, 1998.
- Nemeroff, C.B., Owens, M.J. Treatment of mood disorders. **Nature Neurosci.**, v. 5, p. 1068-1070, 2002.
- Nowak, G., Szewczyk, B., Sadlik, K., Piekoszewski, W., Trela, F., Florek, E., Pilc, A. Reduced potency of zinc to interact with NMDA receptors in hippocampal tissue of suicide victims. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 55, p. 455-459, 2003.
- Olmos, G., Degregorio-Rocasolano, N., Regalado, M.P., Gasull, T., Boronat, M.A., Trullas, R., Villarroel, A., Lerma, J., García-Sevilla, J.A. Protection by imidazol (ine) drugs and agmatine of glutamate-induced neurotoxicity in cultured cerebellar granule cells through blockade of NMDA receptor. **Br. J. Pharmacol.**, v. 127, p. 1317-1326, 1999.
- Onal, A., Soykan, N. Agmatine produces antinociception in tonic pain in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 69, p. 93-97, 2001.

- O'Neill, M.F., Osborne, D.J., Woodhouse, S.M., Conway, M.W. Selective imidazoline I₂ ligands do not show antidepressant-like activity in the forced swim test in mice. **J. Psychopharmacol.**, v. 15, p.18-22, 2001.
- Osman, O.T., Rudorfer, M.V., Potter, W.Z. Idazoxan: a selective alpha-2 antagonist and effective sustained antidepressant in two bipolar depressed patients. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 46, p. 958-959, 1989.
- Petrie, R.X.A, Reid. I.C., Stewart, C.A. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity and depressive disorder. A critical review. **Pharmacol. Ther.**, v. 87, p. 11-25, 2000.
- Piletz, J.E., Halaris, A., Ernsberger, P.R. Psychopharmacology of imidazoline and 2-adrenergic receptors: implications for depression **Crit. Rev. Neurobiol.**, v. 9, p. 29-66, 1994.
- Piletz, J.E., Halaris, A.E., Nelson, J., Qu, Y., Bari, M. Platelet I₁-imidazoline binding site are elevated in depression but not generalized anxiety disorder. **J. Psychiatry Res.**, v. 30, p.147-168, 1996.
- Piletz, J.E., Ordway G.A., Rajkowska, G., Zhu H., Klimek, V., Swilley, S., Ducan, B.J., May, W., Halaris, A.E. Differential expression of alpha (2)-adrenoceptor vs. imidazoline binding sites in postmortem orbitofrontal cortex and amygdala of depressed subjects. **J. Psychiatry**, v. 37, p. 399-409, 2003.
- Porsolt, R.D., Bertin, A., Jalfre, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch. Int. Pharmacol. Ther.**, v. 229, p. 327-336, 1977.
- Potter, W.Z. Bipolar depression: specific treatments. **J. Clin. Psychiatry**, v. 59 (suppl. 18), p. 30-36, 1998.

- Potter, W.Z., Grossman, F., Dawkins, K., Manji, H.K. Initial clinical psychopharmacological studies of alpha-2 adrenoceptor antagonists in volunteers and depressed patients. In: Montgomery, S.A., Corn, T.H. (Eds.) **Psychopharmacology of depression**. British Association for Psychopharmacology Monograph n° 13, Oxford University Press, New York. 1994.
- Price, L.H., Charney, D.S., Rubin, A.L., Heninger, G.R. Alpha 2-adrenergic receptor function in depression. The cortisol response to yohimbine. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 43, p. 849-858, 1986.
- Proescholdt, M., Heimann, A., Kempfski, O. Neuroprotection of S(+) ketamine isomer in global forebrain ischemia. **Brain Res.**, v. 904, p. 245-251, 2001.
- Raasch, W., Regunathan, S., Li, G., Reis, D.J. Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues. **Life Sci.**, v. 56, p. 2319-2330, 1995.
- Raasch, W., Muhle, H., Dominiak, P. Modulation of MAO activity by imidazoline and guanidine derivatives. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 881, p. 313-331, 1999.
- Raasch, W., Schäfer, U., Chun, J., Dominiak, P. Biological significance of agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding sites. **Br. J. Pharmacol.**, v.133, p. 755-780, 2001.
- Rampello, L., Nicoletti, F., Nicoletti, F. Dopamine and depression. Therapeutic implications. **CNS Drugs**, v. 13, p. 36-45, 2000.
- Redrobe, J.P., Bourin, M. Clonidine potentiates the effects of 5-HT1A, 5-HT1B and 5-HT2A/2C antagonists and 8-OH-DPAT in the mouse forced swimming test. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, v. 8, p. 169-173, 1998.

Regunathan, S., Reis, D.J. Imidazoline receptors and their endogenous ligands. **Pharmacol Toxicol.**, v. 36, p. 511-544, 1996.

Reis, D.J., Regunathan, S. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain?. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 21, p.187-193, 2000.

Ressler, K.J., Nemeroff, C.B. Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. **Biol. Psychiatry**, v. 46, p. 1219-1233, 1999.

Rodrigues, A.L.S., da Silva, G., Mateussi, A.S., Fernandes, E.F., Miguel, O.G., Yunes, R.A., Calixto, J.B., Santos, A.R.S. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of hydroalcoholic extract of *Siphocampylus varticullatus*. **Life Sci.**, v. 70, p. 1347-1458, 2002.

Rodrigues, A.L.S., Rocha, J.B.T., Mello, C.F., Souza, D.O. Effect of perinatal lead exposure on rat behavior in open-field and two-way avoidance tasks. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 79, p.150-156, 1996.

Rosa, A.O., Lin, J., Calixto, J.B., Santos, A.R.S., Rodrigues, A.L.S. Involvement of NMDA receptors and L-arginine-nitric oxide pathway in the antidepressant-like effects of zinc in mice. **Behav. Brain Res.**, v. 144, p. 87-93, 2003.

Sanchez, V., Camarero, J., Esteban, B., Peter, M.J., Green, A.R., Colado, M.I. The mechanisms involved in the long-lasting neuroprotective effect of fluoxetine against MDMA ('ecstasy')-induced degeneration of 5-HT nerve endings in rat brain. **Br. J. Pharmacol.**, v. 134, p. 46-57, 2001.

Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., Weisstaub, N., Lee, J., Duman, R., Arancio, O., Belzung, C., Hen, R. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. **Science**, v. 301, p. 805-809, 2003.

Sastre, M., Regunathan, S., Galea, E., Reis, D.J. Agmatinase activity in rat brain: a metabolic pathway for the degradation of agmatine. **J. Neurochem.**, v. 67, p. 1761-5, 1996.

Shannon, H.E., Lutz E.A. Effects of the I₁ imidazoline/ α_2 -adrenergic receptor agonist moxonidine in comparison with clonidine in the formalin test in rats. **Pain**, v. 85, p. 161-167, 2000.

Sheline, Y.I., Wang, P.W., Gado, M.H., Csernansky, J.G., Vannier, M.W. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 93, 3908-3913, 1996.

Shimizu, E., Hashimoto, K., Okamura, N., Koike, K., Komatsu, N., Kumakiri, C., Nakazato, M., Watanabe, H., Shinoda, N., Okada S., Iyo, M. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. **Biol. Psychiatry**, v. 54, p. 70-75, 2003.

Shirayama, Y., Chen, A.C., Nakagawa, S., Russell D.S., Duman, R.S. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. **J. Neurosci.**, v. 22, p.3251-3261, 2002.

Siuciak, J.A., Lewis, D.R., Wiegand, S.J., Lindsay, R.M. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 56, p. 131-137, 1997.

Skolnick, P. Antidepressants for the new millennium. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 375, p. 31-40, 1999.

Skolnick, P. Modulation of glutamate receptors: Strategies for the development of novel antidepressants. **Amino Acids**, v. 23, p. 153-158, 2002.

Smith, M.A., Kvetnansky, R., Post, R. M. Stress alters the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus. **J. Neurosci.**, v. 15, p.1768-1777, 1995.

Soares, J.C., Mann, J.J. The functional neuroanatomy of mood disorders. **J. Psychiatry Res.**, v. 31, p. 393-432, 1997.

Stahl, S.M. Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. **J. Affect. Disord.**, v. 51, p. 215-235, 1998.

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Simon, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, p. 367-370, 1985.

Suzuki, E., Yagi, G., Nakaki, T., Kanba, S., Asai, M. [Elevated plasma nitrate levels in depressive states](#). **J. Affect. Disord.**, v. 63, p. 221-224, 2001.

Tabor, C.W., Tabor, H. Polyamines. **Annu. Rev. Biochem.** v. 53, p. 749-790, 1984.

Trullas, R., Skolnick, P. Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 185, p. 1-10, 1990.

Von Knorring, L., Perris, C., Oreland, L., Eisemann, M., Eriksson, U., Perris, H. Pain as a symptom in depressive disorders and its relationship to platelet ³H-imipramine binding, 5-HT uptake and 5-HT content in major depressive disorder. **J. Affect. Disord.**, v. 20, p. 101-113, 1984.

- Wegener, G., Volke, V., Harvey, B.H., Rosenberg, R. Local, but not systemic, administration of serotonergic antidepressants decreases hippocampal nitric oxide synthase activity. **Brain Res.**, v. 959, p. 128-134, 2003.
- Weng, X.C., Gai, X.D., Zheng, J.Q., Li, J. Agmatine blocked voltage-gated calcium channel in cultured rat hippocampal neurons. **Acta Pharmacol. Sin.**, v. 24, p. 746-50, 2003.
- Willner, P. The validity of animal models of depression. **Psychopharmacology**, v. 83, p. 1-16, 1984.
- Wong, M., Licinio, J. Research and treatment approaches to depression. **Nature Rev. Neurosci**, v. 2, p. 343-351, 2001.
- Yadid, G., Nakash, R., Tamar, Deri, I., Tamar, G., Kinor, N., Gispan, I., Zangem, A. Elucidation of the neurobiology of depression: insights from a novel genetic animal model. **Prog. Neurobiol.**, v. 62, p. 353-378, 2000.
- Yang, X.C., Reis, D.J. Agmatine selectively blocks the N-methyl-D-aspartate subclass of glutamate receptor channels in rat hippocampal neurons. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 288, p. 544-549, 1999.
- Yesilyurt, O., Uzbay, T. Agmatine potentiates the analgesic effect of morphine by an α_2 -adrenoceptor-mediated mechanism in mice. **Neuropsychopharmacology**, v. 25, p. 98-103, 2001.
- Yildiz, F., Erden, B.F., Ulak, G., Utkan, Y., Gacar, N. Antidepressant-like effect of 7-nitroindazole in forced swimming test in rats. **Psychopharmacology**, v. 149, p. 41-44, 2000.

Zomkowski, A.D., Hammes, L., Lin, J., Calixto, J.B., Santos, A.R., Rodrigues, A.L.
Agmatine produces antidepressant-like effects in two models of depression in
mice. **NeuroReport**, v. 13, p. 387-391, 2002.