

FRANCISCO JAIME LOPES BARBOSA

**ADMNISTRAÇÃO AGUDA, MAS NÃO REPETIDA, DE SULFATO DE
MAGNÉSIO BLOQUEIA A HIPERLOCOMOÇÃO INDUZIDA PELO
METILFENIDATO, UM MODELO ANIMAL DE MANIA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências
Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como
requisito parcial à obtenção do título de Mestre em
Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini

Co-orientadora: Prof^a. Dra Roseli Boerngen -
Lacerda

CURITIBA

2010

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Roberto Andreatini pela orientação generosa e empenhada na modificação produtiva da vida.

À Prof^a. Dra. Roseli Boerngen de Lacerda pelo apoio e por compartilhar os seus conhecimentos.

À minha irmã Maria Bernadete Barbosa Hesse pela fraternidade e colaboração fundamental em todas as fases desta pesquisa.

Ao Professor Antônio V. Lemos que criou o entusiasmo para o estudo deste tema.

À farmacêutica Silvia N. Cordazzo pelo auxílio técnico.

Aos colegas Rodrigo B. de Almeida e Irinéia P. Baretta pelas colaborações no desenvolvimento do trabalho.

NOTA EXPLICATIVA

Esta dissertação é apresentada em formato alternativo, na forma de artigo científico para publicação, conforme as normas do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Paraná. O artigo foi formatado segundo as normas propostas pelo periódico *Pharmacological Reports*, ao qual o manuscrito será em breve submetido.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
OBJETIVOS.....	xi
Objetivo geral.....	xi
Objetivo específico.....	xi
1.ARTIGO CIENTÍFICO: Administração aguda, mas não repetida, de sulfato de magnésio bloqueia a hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, um modelo animal de mania	
1.1 Resumo.....	2
1.2 Abstract.....	4
1.3 Introdução.....	6
1.4 Materiais e métodos.....	16
1.4.1 Animais.....	16
1.4.2 Drogas.....	17
1.5 Atividade motora no campo aberto.....	17
1.6 Procedimento experimental.....	18
1.7 Análise estatística.....	19
1.8 Resultados.....	19
1.8.1 Tratamento agudo com sulfato de magnésio.....	19

1.8.2 Tratamento agudo com valproato de sódio.....	20
1.8.3 Tratamento repetido com sulfato de magnésio e valproato de sódio.....	20
1.8.4 Efeitos dos tratamentos no <i>grooming</i> no campo aberto.....	21
1.9 Discussão.....	27
1.10 Referências.....	33
2. CONCLUSÕES.....	40

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1. Cascata de sinalização intracelular associada à estabilização do humor envolvendo lítio, magnésio e valproato de sódio.....10
- FIGURA 2. Efeitos da administração aguda de Sulfato de Magnésio ($MgSO_4$; 100-400 mg/kg) sobre hiperlocomoção induzida por metilfenidato (2,5 mg/kg, i.p.) em camundongos submetidos ao Campo Aberto.....22
- FIGURA 3. Efeitos da administração aguda de valproato de sódio (100-300 mg/kg) sobre hiperlocomoção induzida por metilfenidato (2,5 mg/kg, i.p.) em camundongos submetidos ao Campo Aberto.....23
- FIGURA 4. Efeitos da administração repetida (14 dias) de valproato de sódio (200 mg/kg) e Sulfato de Magnésio ($MgSO_4$; 300 mg/kg) sobre hiperlocomoção induzida por metilfenidato (2,5 mg/kg, i.p.) em camundongos submetidos ao Campo Aberto.....25
- FIGURA 5. - Efeito do tratamento agudo ou repetido com Sulfato de Magnésio ($MgSO_4$) ou Valproato de Sódio no grooming (número de episódios) no Campo Aberto de camundongos tratados com metilfenidato (Met, 2,5 mg/kg).....26

LISTA DE ABREVIATURAS

BDNF - fator neurotrófico de desenvolvimento do cérebro

Ca²⁺ - Íon cálcio

CGI - Escala *Clinical Global Impression*

EPM – Erro padrão médio

GDNF - fator de crescimento nervoso

GSK-3 - glicogênio sintase quinase 3

I.P. - Intraperitonal

MgCl₂ – Cloreto de magnésio

MgSO₄ – Sulfato de magnésio

mRNA – RNA mensageiro

PKC - Proteína Quinase C

Receptor NMDA - Receptor N-metil-D-aspartato do glutamato

s.c. - subcutâneo

Sistemas NE e DA – Sistemas noradrenérgico e dopaminérgico

SNC – Sistema nervoso central

RESUMO

O sulfato de magnésio é utilizado para tratar e prevenir crises convulsivas na eclampsia e diversas drogas anticonvulsivantes (ex. valproato de sódio) são clinicamente efetivas como drogas antimaníacas. Alguns estudos abertos, com pequeno número de sujeitos e de associação entre medicamentos encontraram melhora de sintomas maníacos com o tratamento com $MgSO_4$. Desta forma estes estudos sugerem um potencial efeito antimaníaco do $MgSO_4$. A hiperlocomoção induzida por psicoestimulantes é proposta como modelo animal para o estudo de drogas antimaníacas.

Desta forma, nós avaliamos o efeito do $MgSO_4$ e do valproato de sódio (como controle positivo) na hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato em camundongos submetidos ao campo-aberto.

O tratamento agudo com $MgSO_4$ (300-400 mg/kg), mas não com valproato (100-300 mg/kg) preveniu o aumento da atividade motora induzida pelo metilfenidato (5 mg/kg). Por outro lado, no tratamento repetido (14 dias) o valproato (200 mg/kg), mas não o $MgSO_4$ (400 mg/kg), bloqueou a hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato. Estes efeitos foram encontrados com doses de valproato ou $MgSO_4$ que não mudam a atividade locomotora por si.

Como conclusão, o tratamento agudo com sulfato de magnésio mostrou efeito antimaníaco neste modelo, o qual concorda com os estudos clínicos de associação entre medicamentos que empregam tratamento de curto-prazo e fundamenta que estudos adicionais que investiguem o $MgSO_4$ como tratamento potencial para mania aguda. Os possíveis mecanismos para esta ação são: o

antagonismo não competitivo com NMDA, a inibição da PKC e ou mudança nos efeitos do cálcio. Por outro lado, este efeito antimaníaco do MgSO₄ desaparece após o tratamento repetido, o que pode ser específico do modelo utilizado ou efeito-colateral do MgSO₄.

Palavras-chave: campo aberto, locomoção, magnésio, mania, metilfenidato , valproato

ABSTRACT

Magnesium sulphate (MgSO_4) is used to treat and prevent eclamptic seizure and several anticonvulsant drugs (e.g. sodium valproate) are clinically effective as antimanic drugs. Some small open and/or add-on studies with MgSO_4 have found improvement of manic symptoms. Thus, these studies suggest a potential antimanic effect of MgSO_4 . Psychostimulant-induced hyperlocomotion is proposed as animal model for studying antimanic drugs.

Thus, we evaluated the effect of MgSO_4 and sodium valproate (as positive control) in hyperlocomotion induced by methylphenidate in mice submitted to open-field.

Acute MgSO_4 (300-400 mg/kg), but not sodium valproate (100-300 mg/kg), prevents increase in locomotor activity induced by methylphenidate (2.5 mg/kg). On the other hand, repeated (14 days) valproate (200 mg/kg), but not MgSO_4 (400 mg/kg), blocked methylphenidate-induced hyperlocomotion. These effects were seen at doses of valproate or MgSO_4 that did not change locomotor activity per se.

In conclusion, acute magnesium sulphate shows antimanic-like effect in this model, which fits with add-on small clinical studies that employed a short-term treatment, and supports further studies for investigating MgSO_4 as potential treatment for acute mania. Possible mechanisms of this action are: NMDA non-competitive antagonism, PKC inhibition and/or changing in calcium effects. On the other hand, this antimanic-like effect of MgSO_4 disappears after repeated treatment, which could be specific for the model used or a side-effect of MgSO_4 .

Key words: open-field, locomotion, magnesium, mania, methylphenidate, sodium valproate.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito antimaníaco do sulfato de magnésio em modelo animal de mania.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Validar o modelo, através da utilização do valproato de sódio, no bloqueio do aumento da atividade locomotora induzida pelo metilfenidato.

2. Avaliar o efeito do sulfato de magnésio no aumento da atividade motora induzida pelo metilfenidato

Administração aguda, mas não repetida, de sulfato de magnésio bloqueia a hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, um modelo animal de mania

Francisco Jaime Barbosa^{1,2}, Bernardete Barbosa Hesse, Rodrigo B de Almeida¹, Irinéia P Baretta¹, Roseli Boengen-Lacerda¹, Roberto Andreatini¹

¹Departamento de Farmacologia, Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Jardim das Américas,
Curitiba, PR, Brasil

²Departamento de Medicina Forense e Psiquiatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil

Resumo:

O sulfato de magnésio é utilizado para tratar e prevenir crises convulsivas na eclampsia e diversas drogas anticonvulsivantes (ex. valproato de sódio) são clinicamente efetivas como drogas antimaníacas. Alguns estudos abertos pequenos e de associação entre medicamentos encontraram melhora de sintomas maníacos com o tratamento com MgSO₄. Desta forma estes estudos sugerem um potencial efeito antimaníaco do MgSO₄. A hiperlocomoção induzida por psicoestimulantes é proposta como modelo animal para o estudo de drogas antimaníacas.

Desta forma, nós avaliamos o efeito do MgSO₄ e do valproato de sódio (como controle positivo) na hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato em camundongos submetidos ao campo-aberto.

O tratamento agudo com MgSO₄ (300-400 mg/kg), mas não com valproato (100-300 mg/kg) preveniu o aumento da atividade motora induzida pelo metilfenidato (5 mg/kg). Por outro lado, no tratamento repetido (14 dias) o valproato (300 mg/kg), mas não o MgSO₄ (400 mg/kg), bloqueou a hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato. Estes efeitos foram encontrados com doses de valproato ou MgSO₄ que não mudam a atividade locomotora *per se*.

Como conclusão, o tratamento agudo com sulfato de magnésio mostrou efeito antimaníaco neste modelo o qual adapta-se com estudos clínicos pequenos de associação entre medicamentos que empregam tratamento de curto-prazo e fundamenta estudos adicionais que investiguem o MgSO₄ como tratamento potencial para mania aguda. Os possíveis mecanismos para esta ação são: o antagonismo não competitivo NMDA, a inibição da PKC e ou mudança nos

efeitos do cálcio. Por outro lado, este efeito antimaniaco do MgSO₄ desaparece após o tratamento repetido, o que pode ser específico do modelo utilizado ou efeito-colateral do MgSO₄.

Palavras-chave: campo aberto, locomoção, magnésio, mania, metilfenidato , valproato

Abstract

Magnesium sulphate (MgSO₄) is used to treat and prevent eclamptic seizure and several anticonvulsants drugs (e.g. sodium valproate) are clinically effective antimanic drugs. Some small open and/or add-on studies with MgSO₄ have found improvement of manic symptoms. Thus, these studies suggest a potential antimanic effect of MgSO₄. Psychostimulant-induced hyperlocomotion is proposed as animal model for study antimanic drugs.

Thus, we evaluated the effect of MgSO₄ and sodium valproate (as positive control) in hyperlocomotion induced by methylphenidate in mice submitted to open-field.

Acute MgSO₄ (300-400 mg/kg), but not sodium valproate (100-300 mg/kg), prevents increase in locomotor activity induced by methylphenidate (2.5 mg/kg). On the other hand, repeated (14 days) valproate (300 mg/kg), but not MgSO₄ (400 mg/kg), blocked methylphenidate-induced hyperlocomotion. These effects were seen at doses of valproate or MgSO₄ that did not change locomotor activity *per se*.

In conclusion, acute magnesium sulphate shows antimanic-like effect in this model, which fit with add-on small clinical studies that employed a short-term treatment, and supports further studies that investigate MgSO₄ as potential treatment for acute mania. Possible mechanisms of this action are: NMDA non-competitive antagonism, PKC inhibition and/or change in calcium effects (Murck H, Nutr Neurosci 2002; 5:375-389). On the other hand, this antimanic-like effect of MgSO₄ disappears after repeated treatment, which could be specific for the model used or a side-effect of MgSO₄.

Key words: open-field, locomotion, magnesium, mania, methylphenidate, valproate.

Introdução

O magnésio é um cátion inorgânico que desempenha um papel fundamental no funcionamento do sistema monoaminérgico. Estudos revelam reduções em níveis locais de monoaminas em situações de deficiência do íon magnésio (Mg^{2+}). Há muitas evidências de que há um decréscimo da afinidade dos receptores alfa e betadrenérgicos quando ocorre a redução dos níveis de Mg^{2+} . O íon magnésio estaria associado à ligação dos neurotransmissores aos receptores serotoninérgicos, dopaminérgicos, alfa e betaadrenérgicos e opióides (Murck, 2002; Szewczyk et al., 2008; Cardoso et al., 2009). Considerando o magnésio como importante co-fator no funcionamento de neurotransmissores, não seria surpresa encontrar alterações de comportamento associadas ao funcionamento destes neurotransmissores, quando os níveis de magnésio estivessem alterados (Kantak, 1988).

Os níveis de magnésio intra e extracelulares exibem grande variação devido a importantes diferenças interindividuais. Estas diferenças podem ter um importante significado fisiológico considerando que pequenas mudanças nas concentrações de magnésio intracelular têm sido associadas a alterações do metabolismo, estrutura e bioenergética celular. Os níveis de magnésio eritrocitário exibem largas variações tanto em intergrupos humanos relacionados a elementos étnicos quanto em ratos com relação a raças (Henrotte, 1997).

Um importante uso clínico do magnésio seria na prevenção de crises convulsivas na eclampsia, entretanto seu efeito anticonvulsivante é assunto de debate. O possível mecanismo de ação anticonvulsivante do magnésio tem sido relacionado ao papel de antagonista não competitivo do receptor N-metil-

D-aspartado (NMDA) do glutamato. Crises convulsivas têm sido conhecidamente mediadas, pelo menos em parte pela estimulação do receptor NMDA. O magnésio é um agente neuroprotetor que atua através do bloqueio da entrada de cálcio (Ca^{2+}) dentro dos neurônios através da atuação moduladora em receptores NMDA. O cálcio ativa enzimas intracelulares que degradam lipídios, liberando radicais livres importantes na lesão celular (Libien et al, 2005; Trindade, 2006). Em estudos com ratos, o tratamento sistêmico com magnésio resulta em resistência a crises convulsivas por estimulação elétrica e também na indução de crises pela estimulação de receptores NMDA hipocampais. O tratamento sistêmico com sulfato de magnésio causa uma significativa redução na capacidade de ligação dos receptores NMDA no cérebro. Estudos em animais têm demonstrado que o sulfato de magnésio reduz a atividade epilética, entretanto estes achados tem sido motivo de discussão devido à inadequação dos grupos controles. Estudos com modelos animais demonstram que os íons magnésio cruzam a barreira hemato-encefálica intacta e evidenciam uma correlação com o nível sérico de magnésio. A atividade epilética aumenta o movimento de magnésio para dentro do cérebro. Estudos em humanos têm demonstrado um pequeno, porém significativo aumento das concentrações de sulfato de magnésio após administração sistêmica. Há uma hipótese de que a hipertensão aguda possa levar a convulsões e que a alteração associada em barreira hemato-encefálica possa permitir que o sulfato de magnésio entre no parênquima cerebral e atue como um anticonvulsivante durante a eclâmpsia. Diversos estudos têm demonstrado que o sulfato de magnésio diminui a formação do edema cerebral após a lesão do parênquima. Diversos mecanismos de ação têm sido

propostos para explicar os efeitos neuroprotetivos do sulfato de magnésio. É possível que o magnésio seja um antagonista de cálcio no citoesqueleto das células endoteliais e oponha-se aos movimentos para-celulares de solutos através das junções intercelulares. O tratamento com sulfato de magnésio pode diminuir a pinocitose causada pela hipertensão aguda e restringir o movimento de água e solutos para dentro do cérebro pelo transporte celular, limitando a formação do edema e melhorando o quadro clínico relacionado à eclâmpsia (Euser and Cipolla, 2009).

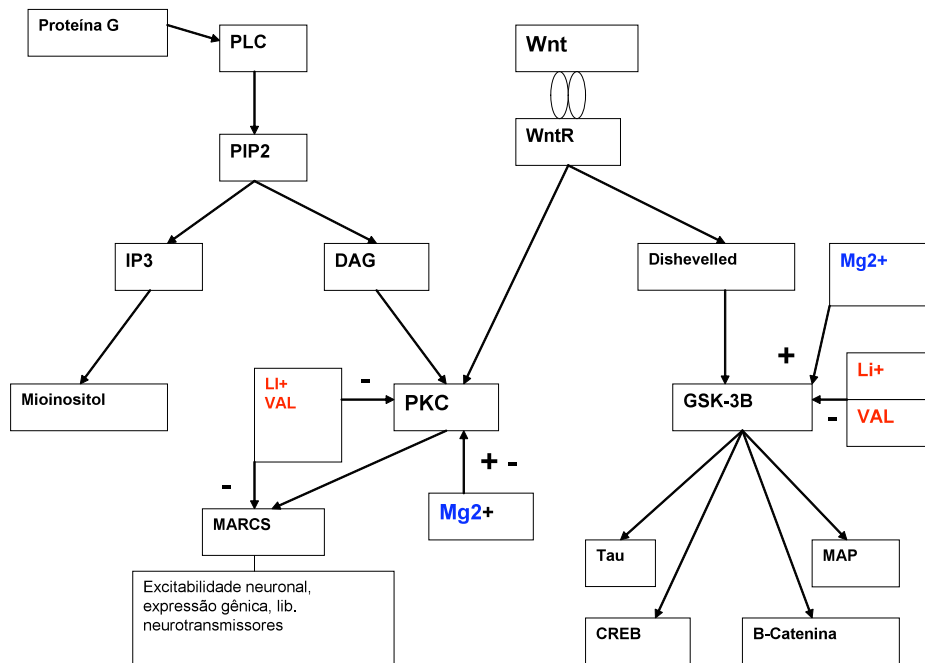
O magnésio tem uma ação complexa em sistema nervoso central (SNC). Interações farmacocinéticas e farmacodinâmicas têm sido descritas entre as concentrações de magnésio plasmático ou tecidual e a ação das drogas psicofarmacológicas. Dados existentes confirmam a idéia de que o aumento do magnésio eritrocitário está envolvido no mecanismo de ação de alguns psicofármacos. Psicofármacos com diferentes estruturas químicas e diferentes mecanismos de ação aumentam a concentração de magnésio em eritrócitos de pacientes com transtorno bipolar, sendo este aumento considerado como um importante elemento no mecanismo de ação dos estabilizadores de humor (Nechifor, 2008). Alguns estudos demonstraram uma diminuição dos níveis eritrocitários de Mg^{2+} e zinco em pacientes com transtorno bipolar do humor com relação aos controles sem o transtorno. Os níveis de magnésio eritrocitário estavam baixos antes do tratamento com carbamazepina e valproato e aumentaram após o tratamento com estes estabilizadores do humor (Nechifor et al, 2006).

A eficácia clínica do magnésio tem sido demonstrada em pacientes com diferentes transtornos afetivos e do humor como mania, ciclagem rápida do

transtorno bipolar, síndrome da fadiga crônica, depressão atípica e síndrome pré-menstrual (Wójcik et al, 2006).

Alguns anticonvulsivantes como o valproato de sódio e carbamazepina exercem efeitos antimaníacos (Bowden, 2002). A eficácia do valproato de sódio e da carbamazepina no tratamento da mania bipolar tem sido estabelecida em vários estudos controlados duplo cego (Keck and Manji, 2002). Nesta mesma linha, há alguns estudos sugerindo que o sulfato de magnésio pode exercer um efeito clínico antimaníaco (Chouinard et al., 1990; Heiden et al., 1999; Giannini et al., 2000). Heiden et al. (1999) observaram em um estudo aberto que o sulfato de magnésio intravenoso aumentou a eficácia de drogas antimaníacas como lítio, haloperidol e clonazepan em pacientes severamente agitados. Dez pacientes sofrendo de agitação maníaca severa e resistente à terapêutica (idade entre 24 e 42 anos), receberam infusões IV contínuas $MgSO_4$ 5% 200 mg/hora, dose que acarreta um nível plasmático de magnésio entre 2.0-3.0 mmol/l e recomendada para o tratamento da pré-eclâmpsia. O tratamento concomitante com lítio, haloperidol e clonazepan foi mantido durante o estudo. Os pacientes foram tratados com $MgSO_4$ entre 7 e 23 dias. Em comparação com a linha de base, sete pacientes mostraram melhora significativa durante o tratamento com magnésio, avaliada pela escala CGI (*Clinical Global Impression*), havendo ainda uma redução na dose de antipsicótico e/ou benzodiazepínico. Os efeitos adversos observados foram a ocorrência de bradicardia (5 pacientes), náusea ou redução da saturação de oxigênio, que foi relacionada com altos níveis de magnésio plasmático. Este estudo indica que a associação de $MgSO_4$ pode ser útil no controle da agitação maníaca grave. Giannini et al. (2000), em um estudo controlado (duplo-cego, comparativo com

FIGURA 1 - Cascata de sinalização intracelular associada à estabilização do humor envolvendo lítio, magnésio e valproato de sódio



- CREB – Proteína do elemento de resposta do AMP cíclico
- DAG – Diacilglicerol
- GSK-3B - - Glicogênio sintase quinase 3
- IP3 – Inositol trifosfato
- Li+ - Lítio
- MARCS - Myristoylated alanine-rich C kinase substrate
- Mg2+ - Magnésio
- PKC – Proteína quinase C
- PIP2 - Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato
- PLC – Fosfolipase C
- Tau – Proteína associada aos microtúbulos do citoesqueleto
- VAL – Valproato

placebo e com uma pequena amostra; n= 20), encontrou que o óxido de magnésio (375 mg/ dia) aumenta a eficácia do verapamil, um bloqueador de canal de cálcio, na terapia de manutenção da mania. Novamente, estes resultados indicam um possível efeito da associação de magnésio ao tratamento antimaníaco. Chouinard et al. (1990) executaram um estudo com magnésio em monoterapia em mania (mas com desenho de estudo aberto) e observaram que o aspartato de magnésio via oral reduz a intensidade dos sintomas de pacientes cicladores rápidos.

A inibição da Proteína Quinase C (PKC) pelo lítio e valproato tem sido sugerida como o mecanismo de estabilização do humor de maior importância no transtorno bipolar (Manji and Lenox, 2000; Manji and Chen, 2002). Diversas linhas de evidência implicam numa atividade anormal da PKC no transtorno bipolar. A PKC constitui uma família de enzimas que fosforila neurotransmissores, receptores, moléculas de sinalização intracelular, fatores de transcrição e proteínas do citoesqueleto. O aumento da atividade da PKC tem sido encontrado em plaquetas de pacientes em fase de mania do transtorno bipolar em comparação a grupos controle. As drogas psicoestimulantes, que ativam a PKC, podem desencadear episódios de mania em pessoas suscetíveis e induzir comportamentos como aumento da atividade motora em ratos (Manji and Lenox, 2000; Manji and Chen, 2002; Einat et al., 2007). O tratamento repetido com lítio e valproato de sódio diminui a razão PKC de membrana para o citosol, em resposta a estímulo químico. Estudos *post-mortem* têm encontrado aumento do PKC basal em tecido do córtex frontal de pacientes com transtorno bipolar do humor com relação a grupos controle (Yildiz et al, 2008). O tratamento com lítio acima de 2 semanas resulta em

redução da atividade da PKC citosólica e de membrana e atenuação da translocação da PKC em resposta à serotonina (Manji and Lenox, 2000). O magnésio tem uma influência direta na função da PKC. O fragmento catalítico da PKC interage com o substrato protéico MgATP e Mg^{2+} (Hannun and Bell, 1990). A subunidade catalítica da PKC requer o magnésio como co-fator e por outro lado a desativação da PKC pelo ATP (adenosina trifosfato) depende da presença do magnésio. O aumento da atividade da PKC é uma consequência possível da depleção de magnésio (Murck, 2002).

Em concentrações terapêuticas, o lítio inibe um pequeno número de enzimas via competição com o magnésio (Ryves and Harwood, 2001). Lítio e magnésio partilham muitas propriedades físico-químicas. Muitos alvos celulares de ação do lítio, envolvem enzimas que são ativadas pelo magnésio e são inibidas pelo lítio (figura 1). O lítio tem um raio iônico similar ao do magnésio (Mg^{2+}) e hipoteticamente a competição entre os 2 íons ocorre em células intactas com relação à proteínas que são ativadas pelo Mg^{2+} e pelos grupos fosfatos de segundos mensageiros (Freitas et al, 2006). Evidências recentes indicam que entre diversas quinases, o lítio especificamente inibe a glicogênio sintase quinase 3 (GSK-3) em concentrações terapêuticas *in vitro* e em cérebro de ratos (Gould et al, 2004; Ryves et al, 2005). Algumas propriedades farmacológicas do lítio podem ser explicadas pela inibição seletiva da GSK-3. A atividade anormal da GSK-3 pode levar a mudanças na neurofisiologia do cérebro e talvez seja um agente causativo dos transtornos afetivos. Em relação à GSK-3, o lítio atua como um antagonista competitivo do magnésio. Isto significaria que a concentração de magnésio determina o potencial de inibição da GSK-3 pelo lítio. Tem sido demonstrado que a GSK-3 necessita do

magnésio livre (Mg^{2+}) como co-fator para atuação em seu substrato. A atividade da GSK-3 poderia ser supostamente inibida pela quelação do magnésio (Ryves and Harwood, 2001).

Mudanças anatômicas associadas ao transtorno bipolar podem ser resultantes de mudanças relacionadas aos fatores neurotróficos e ao aumento da atividade pró-apoptótica neuronal. Por exemplo, os níveis de BDNF (fator neurotrófico de desenvolvimento do cérebro), GDNF (fator de crescimento nervoso) e das neurotrofinas NT3 e NT4 são alterados durante o curso do transtorno (Kapczinski et al, 2009). Estes fatores são conhecidos por promoverem a sobrevivência celular através da supressão da maquinaria apoptótica através da ligação destes fatores com os seus receptores de membrana específicos e a regulação das vias de transdução de sinais que podem controlar a apoptose neuronal inclusive pela regulação de membros do grupo das proteínas bcl2 (Manji and Chen, 2002.) Os níveis de BDNF decrescem nos estágios tardios (mas não iniciais) do transtorno bipolar do humor (Kapczinski et al, 2009). Golan et al (2004) demonstraram em um estudo com modelo animal que o pré-tratamento com magnésio está associado a níveis estáveis de BDNF em cérebro fetal de camundongos. A redução de BDNF mRNA já havia sido demonstrada em estudos anteriores (sobre hipoxemia-isquemia materna), isto somado à observação de que o BDNF tem um efeito profilático com relação à lesão cerebral produzida em ratos recém-nascidos produzida por hipoxemia-isquemia (Golan et al., 2004).

Por outro lado, tem sido demonstrado que o magnésio apresenta efeitos antidepressivos em modelos animais de depressão, como o teste de natação forçada e suspensão da cauda (Poleszak et al. 2004; Szewczyk et al., 2008:

Cardoso et al., 2009). Nechifor (2009) encontrou uma diminuição da concentração eritrocitária do magnésio em pacientes com depressão com níveis de intensidade sintomática médio e severo. Uma correlação positiva, neste mesmo estudo, pode ser estabelecida entre o decréscimo da concentração do magnésio em células eritrocitárias em pacientes adultos com depressão maior e os escores medidos na Escala de Depressão de Hamilton, nestes mesmos sujeitos (Nechifor, 2009). Há uma correlação entre a concentração de magnésio em células eritrocitárias e os escores de retardo psicomotor em pacientes deprimidos (Chollet citado por Nechifor, 2009).

Novas perspectivas para o tratamento de transtornos depressivos têm sido focadas nos receptores NMDA do glutamato, que podem estar envolvidos na ação das drogas antidepressivas. Um significativo aumento dos níveis de glutamato em diferentes regiões do cérebro, indicando um aumento dos níveis extracelulares de glutamato, tem sido documentado em estudos com modelos animais de natação forçada (Poleszak et al, 2006). O efeito antidepressivo do magnésio é revertido pela administração de d-serina (Poleszak et al. 2008). O magnésio é um antagonista não competitivo dos receptores NMDA e a d-serina atua como um agonista do sítio da glicina do complexo receptor NMDA. Tem sido sugerida uma mediação glutamatérgica via receptores NMDA para o efeito antimaníaco do magnésio (Heiden et al., 1999; Poleszak et al, 2005).

Por outro lado o magnésio tem sido apresentado como elemento com efeitos similares a estimulantes como cocaína e anfetamina (Kantak, 1989). Kantak e Adlerstein (1990) em um estudo realizado com camundongos tratados com apomorfina (um agonista dopaminérgico) e $MgCl_2$ sugerem a hipótese de propriedades estimulantes, no qual doses de 30 e 125 mg/kg de $MgCl_2$

produzem influências opostas no comportamento agressivo, onde baixas dosagens produzem aumento e altas dosagens, diminuição do comportamento agressivo. O efeito estimulatório de baixas dosagens seria provavelmente relacionado á estimulação de sistemas noradrenérgicos (NE) e dopaminérgicos (DA) enquanto os efeitos disruptivos de diminuição do comportamento agressivo estariam relacionados a altas dosagens e seria provavelmente devido à uma hiperestimulação dos sistemas NE e DA (Kantak and Adlerstein,1990). Izenwasser et al. (1986) sugerem uma ligação direta entre Mg^{2+} e drogas estimulantes e associa os resultados de aumento da agressão ofensiva a baixas doses de $MgCl_2$ e vincula a diminuição deste mesmo comportamento a altas doses de $MgCl_2$. Estes estudos reforçam a noção de que o Mg^{2+} associa-se a uma forte influência na ação das catecolaminas do cérebro e que o seu efeito comportamental seria similar ao de drogas estimulantes.

Donzanti e Uretsky (1984) realizaram um estudo em modelo animal onde a resposta de hipermotilidade mediada por amino-ácidos excitatórios é inibida pelo magnésio através de injeção intra-accumbens de magnésio, demonstrando a inibição da resposta de hipermotilidade induzida pelo ácido N metil-aspártico.

Recentemente, alguns modelos animais de mania têm sido propostos como os modelos de hiperlocomoção induzida pela anfetamina ou pela privação de sono paradoxal (Einat, 2006). Estes modelos têm sido utilizados para o estudo de novos agentes antimaníacos (Frey et al., 2006; Einat et al., 2007; Sabioni et al., 2008). O aumento da atividade motora tem sido sugerido na literatura atual como critério central de estados maníacos além do humor

elevado ou irritado para o diagnóstico de mania. Os critérios de quantificação da hiperatividade motora, além do critério de alterações no comportamento exploratório, têm sido utilizados como medidas objetivas de modelos translacionais-reversos inter-espécies. Nestes estudos um modelo animal de mania aceito poderia ajudar no desenvolvimento de modelos humanos e animais mais precisos objetivando a fundamentação neurobiológica das doenças neuropsiquiátricas (Perry et al, 2009).

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do sulfato de magnésio em modelo animal de estado maníaco (hiperlocomoção induzida por metilfenidato). O metilfenidato é uma droga estimulante do sistema nervoso central que é utilizada para o tratamento do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (Morton and Stockton, 2000). O valproato de sódio foi utilizado como controle positivo.

Materiais e métodos

Animais

Os animais utilizados foram camundongos albinos Swiss machos (idade de 60-90 dias) provenientes do biotério da Universidade Federal do Paraná. Eles foram mantidos em grupos de cinco em caixas de polipropileno com serragem, sob condições de controle de luz (ciclos claro-escuro de 12 horas – luz às 7:00 horas da manhã) e temperatura de mais ou menos 22 graus centígrados) Os animais tinham livre acesso para água e comida durante o experimento. Todos os experimentos foram feitos de acordo com o *Guide and Care and Use of Laboratory Animal's (National Institute of Health)* e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (protocolo número CEEA 306).

Drogas

Metilfenidato (Novartis, Brasil) foi diluído em tween 80 e salina e administrado s.c. (via subcutânea) na dose de 5 mg/kg.

Valproato de sódio (Valpakine, Sanofi-Sinthélabo, Brasil) foi dissolvido em salina e administrado nas doses de 100, 200, 300 mg/kg (estudo agudo) e 200 mg/kg (estudo crônico).

Sulfato de magnésio (Sigma, EUA) dissolvido em salina e administrado nas doses de 100, 200, 300, 400 mg/kg (estudo agudo) e 400 mg/kg (estudo crônico).

Durante o estudo com administração repetida, o valproato de sódio foi administrado diariamente na dose de 200 mg/kg e o sulfato de magnésio na dose de 400 mg/kg por um período de 14 dias.

Todas as drogas e os veículos foram administrados em volume constante de 10 ml/kg de peso corporal. As doses das drogas e o esquema de tratamento foram baseados em estudos publicados previamente (Poleszak et al. 2005; 2008; Arban et al., 2005; Barbier and Wang, 2009; Frey et al., 2006; Cardoso et al., 2009;)

Atividade motora no Campo-Aberto

A atividade motora de cada animal foi medida em campo aberto, que consiste em uma arena circular com 40 cm de diâmetro e 28 cm de altura. O piso do campo aberto é dividido em 25 espaços determinados por 3 círculos concêntricos. O nível de iluminação no chão do aparato era de 290 lux. O número de linhas cruzadas é cumulativamente registrado em um período de 5

minutos. A locomoção foi dividida em periférica, quando o camundongo se movimentava pelos espaços que tinham uma das linhas delimitada pela parede lateral (círculo mais externo), e central, locomoção por espaços que não tinham contato com as paredes laterais (dois círculos mais centrais). Adicionalmente foi também registrado o número de episódios de *grooming*, que é quando o animal exibe comportamento de auto-limpeza. Os animais foram testados em campo aberto 15 minutos após o tratamento.

Procedimento experimental

Para avaliar o efeito do sulfato de magnésio e do valproato de sódio na hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato, as drogas foram administradas previamente ao metilfenidato, sendo a atividade motora comparada com os grupos controle (grupos tratados com a droga teste mais salina). Especificamente, quarenta e cinco minutos antes do teste, os camundongos foram tratados com veículo (solução salina) ou uma droga experimental (sulfato de magnésio ou ácido valpróico, ambos IP) e 30 minutos depois foi administrado salina ou metilfenidato 5 mg/kg (ambos SC). Quinze minutos após a administração do metilfenidato, os camundongos foram testados em campo aberto por 5 minutos.

Durante o estudo com administração repetida, o valproato de sódio foi administrado diariamente na dose de 200 mg/kg e o sulfato de magnésio na dose de 400 mg/kg por um período de 14 dias.

Análise estatística

Desde que os dados mostram a heterogeneidade da variância, os dados brutos foram transformados em formas logarítmicas naturais. Após isto, os resultados logarítmicos apresentavam homoscedastidade e distribuição normal e, portanto, foram analisados pela ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Duncan. As comparações de interesse foram previamente estabelecidas entre os grupos: (a) droga/salina + metilfenidato e droga/salina + salina (validação do modelo e efeito da droga teste na hiperlocomoção induzida por metilfenidato); (b) veículo + salina e droga + salina (efeito da droga testada na locomoção). Por conveniência prática e com o objetivo de evitar a influência do ritmo circadiano, os camundongos foram randomicamente divididos em grupos e os experimentos foram conduzidos em dias diferentes, sempre no mesmo período do dia (entre as 13:00 – 18:00h, sempre no período claro). Estes resultados foram combinados juntos em um registro de dados desde que não se observasse diferenças significativas entre os grupos controles (veículo mais salina) de cada dia do experimento. A significância estatística foi considerada $p < 0.05$.

Resultados

Tratamento agudo com Sulfato de Magnésio

Na figura 2 estão representados os resultados do tratamento com sulfato de magnésio e metilfenidato na atividade motora no campo aberto. A ANOVA indicou um efeito do tratamento na locomoção total [$F(9,91) = 2,193$, $p < 0,05$] e locomoção periférica [$F(9,91) = 2,245$, $p < 0,05$], mas não na locomoção central [$F(9,91) = 1,002$, NS]. Na locomoção total, o metilfenidato aumentou a

locomoção nos grupos pré-tratados com salina e com as duas menores doses de sulfato de magnésio (100 e 200 mg/kg; todos $p < 0,05$), mas não nos grupos tratados com as maiores doses de sulfato de magnésio (300 e 400 mg/kg). Resultado similar foi observado na locomoção periférica.

Tratamento agudo com Valproato de sódio

Na figura 3 estão representados os efeitos do valproato de sódio e do metilfenidato na atividade motora no campo aberto. A ANOVA indicou efeito significativo para a locomoção total [$F(7,61) = 7,667$, $p < 0,0001$], locomoção central [$F(7,61) = 2,447$, $p < 0,05$] e locomoção periférica [$F(7,61) = 6,045$, $p < 0,0001$]. O metilfenidato aumentou atividade motora (todos $p < 0,05$) em todos os grupos, independentemente do tratamento prévio. Em relação à locomoção central, apenas o tratamento com valproato 200 mg/kg bloqueou o efeito do metilfenidato, sendo que nos grupos veículo e valproato 100 mg/kg observou-se uma tendência do metilfenidato em aumentar a atividade ($0,10 > p > 0,05$). Em relação à locomoção periférica, os grupos tratados com valproato e metilfenidato apresentaram um aumento da atividade motora (todos $p < 0,05$).

Tratamento repetido com Sulfato de Magnésio e Valproato de Sódio

Na figura 4 estão representados os efeitos da administração repetida (14 dias) com valproato de sódio (200 mg/kg) e do sulfato de magnésio (400 mg/kg) na hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato na atividade motora no campo aberto. A ANOVA indicou efeito significativo para a locomoção total [$F(5, 27) = 5,554$, $p < 0,01$], locomoção central [$F(5, 27) = 6,189$, $p < 0,001$] e locomoção periférica [$F(5, 27) = 4,985$, $p < 0,01$]. O metilfenidato aumentou a locomoção total no campo aberto, sendo que apenas o tratamento com valproato bloqueou esta hiperlocomoção induzida pelo metilfenidato. Na locomoção central

observou-se que o metilfenidato aumentou a locomoção ($p < 0,001$ em relação ao grupo salina + salina), que foi bloqueado pelo valproato, mas não pelo sulfato de magnésio ($p < 0,05$ em relação ao grupo sulfato de magnésio + salina). Na locomoção periférica observou-se um aumento apenas no grupo tratado com sulfato de magnésio + metilfenidato em relação ao grupo tratado com sulfato de magnésio + salina ($p < 0,01$).

Efeitos dos tratamentos no grooming no Campo Aberto

Na figura 5 estão representados os resultados dos tratamentos no número de episódios de *grooming* no Campo Aberto. Não foram observados efeitos dos tratamentos agudos [sulfato de magnésio: $F(9, 91) = 1,740$, NS; valproato: $F(7, 61) = 1,867$, NS] no número de episódios de *grooming* (Fig. 4A e 4B), indicando que nenhuma das drogas (metilfenidato, valproato ou sulfato de magnésio) alterou o *grooming*. Por outro lado, no tratamento crônico observou-se uma alteração do *grooming* [$F(5, 27) = 3,226$, $p < 0,05$], com uma redução após a administração de metilfenidato nos grupos salina e sulfato de magnésio (ambos $p < 0,05$).

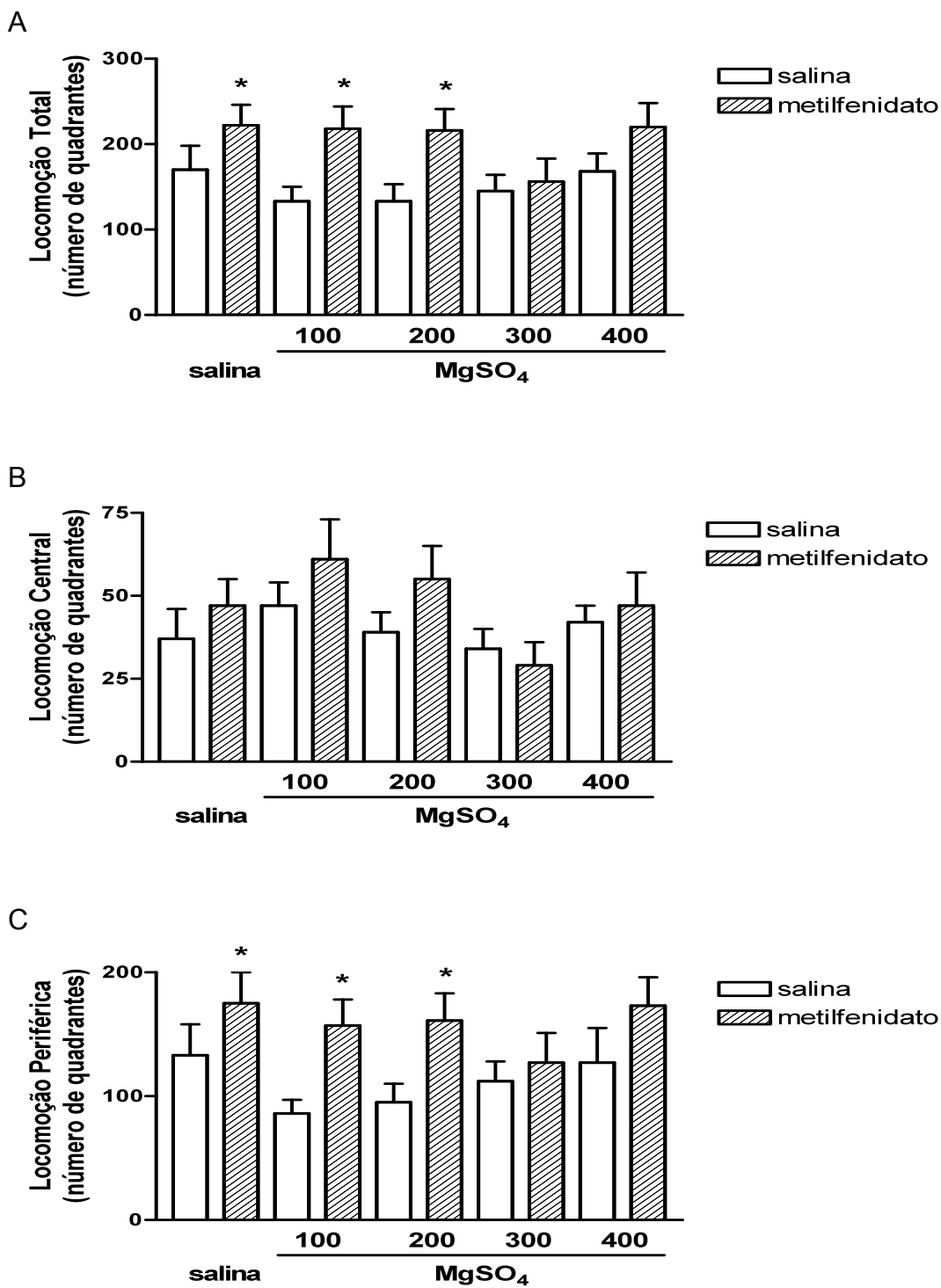
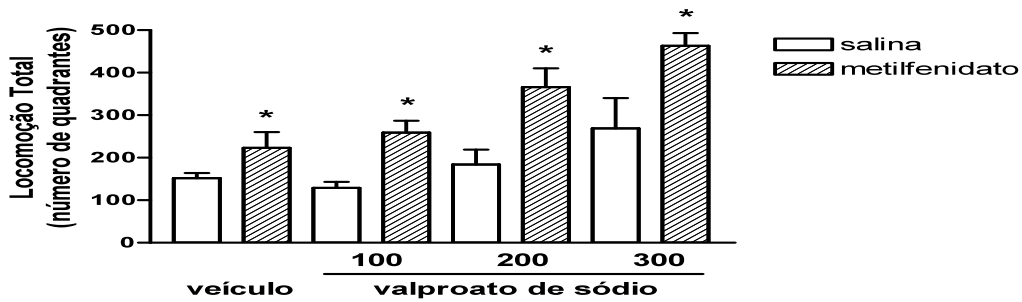


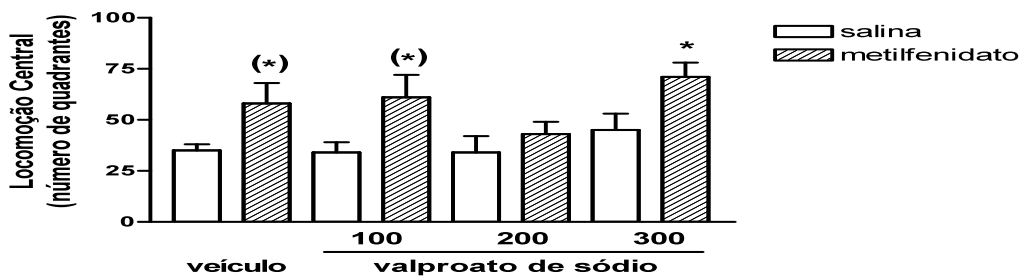
FIGURA 2. Efeitos da administração aguda de Sulfato de Magnésio (MgSO₄; 100-400 mg/kg) sobre hiperlocomoção induzida por metilfenidato (2,5 mg/kg, i.p.) em camundongos submetidos ao Campo Aberto. (A) locomoção total; (B) locomoção central; (c) locomoção periférica. Dados representam média + EPM do número de quadrantes cruzados (n= 6-15/ grupo). * p < 0,05 em relação ao

respectivo grupo salina (+ salina ou MgSO₄)

A



B



C

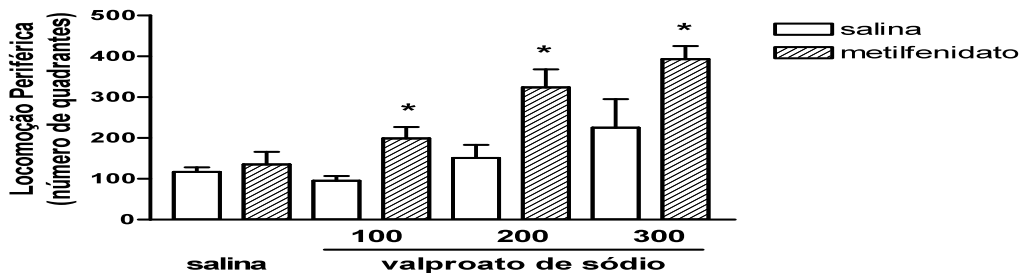


FIGURA 3. Efeitos da administração aguda de valproato de sódio (100-300 mg/kg) sobre hiperlocomoção induzida por metilfenidato (2,5 mg/kg, i.p.) em camundongos submetidos ao Campo Aberto. (A) locomoção total; (B) locomoção central; (c) locomoção periférica. Dados representam média + EPM do número de quadrantes cruzados (n= 5-14/ grupo).

* p < 0,05 em relação ao respectivo grupo salina (+ salina ou valproato)

(*) 0,10 > p > 0,05 em relação ao grupo salina (+ salina ou valproato)

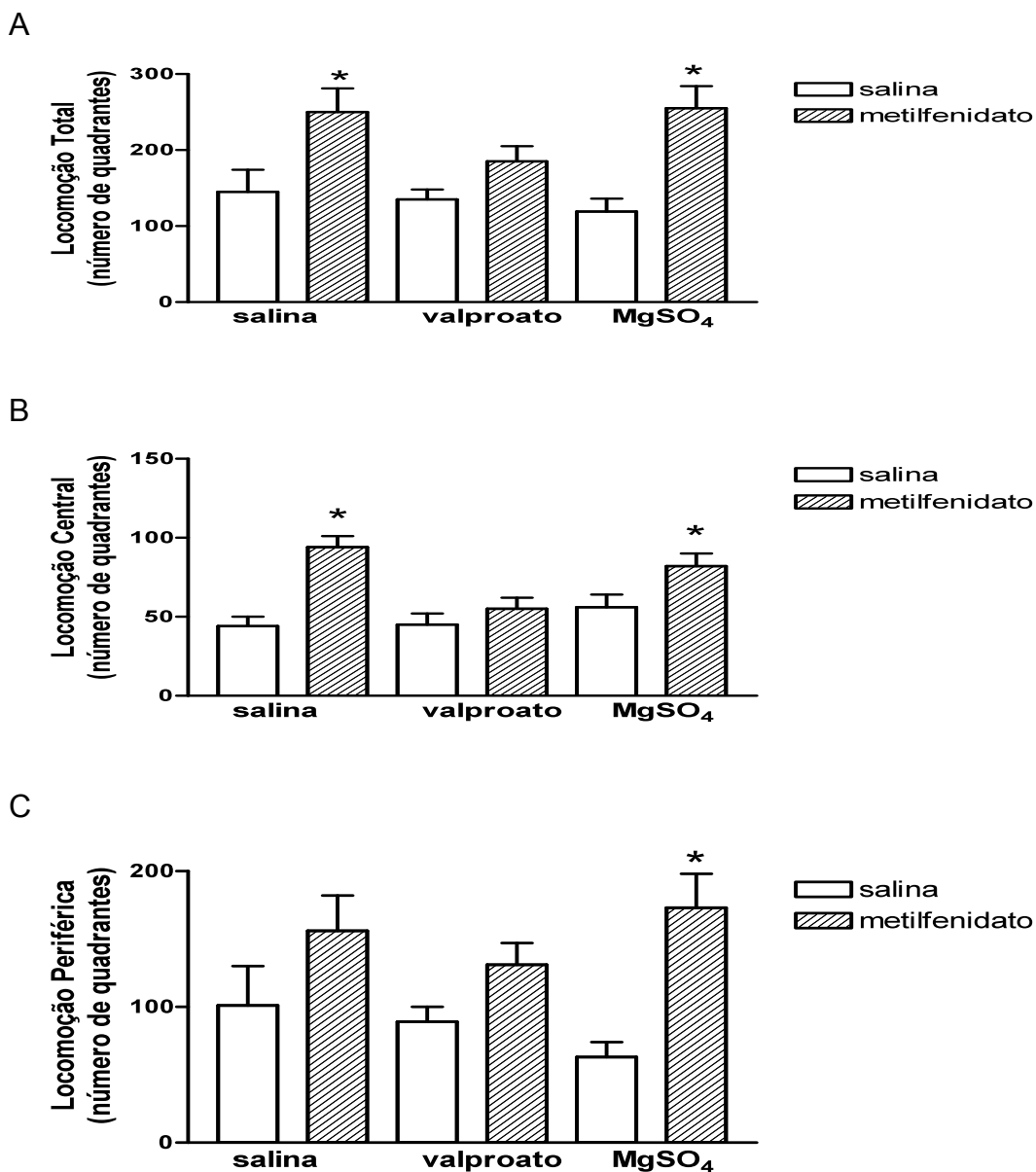


FIGURA 4. Efeitos da administração repetida (14 dias) de valproato de sódio (200 mg/kg) e Sulfato de Magnésio (MgSO₄; 400 mg/kg) sobre hiperlocomoção induzida por metilfenidato (2,5 mg/kg, i.p.) em camundongos submetidos ao Campo Aberto. (A) locomoção total; (B) locomoção central; (c) locomoção periférica. Dados representam média + EPM do número de quadrantes cruzados (n= 5-7/ grupo). * p < 0,05 em relação ao respectivo grupo salina (+ salina, valproato ou MgSO₄)

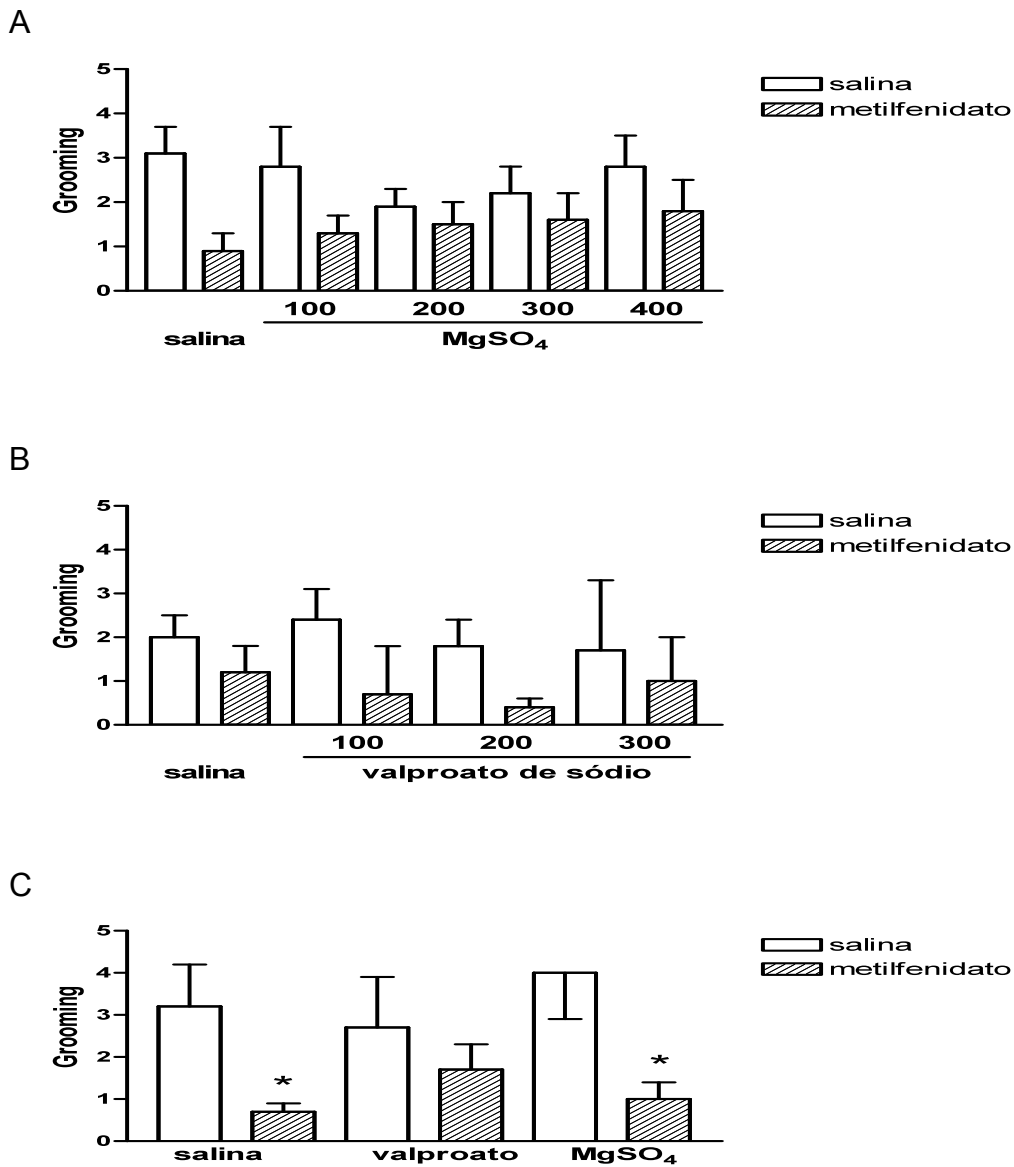


FIGURA 5 - Efeito do tratamento agudo ou repetido com Sulfato de Magnésio (MgSO₄) ou Valproato de Sódio no grooming (número de episódios) no Campo Aberto de camundongos tratados com metilfenidato (Met, 2,5 mg/kg). (A) sulfato de magnésio agudo (100-400 mg/kg); (B) valproato de sódio agudo (100–200 mg/kg); (C) tratamento repetido (sulfato de magnésio 400 mg/kg; valproato de sódio 200 mg/kg). Dados representam média + EPM (n= 5-15/ grupo). * p < 0,05 em relação ao respectivo grupo salina (+ salina, valproato ou MgSO₄)

Discussão

O resultado mais relevante deste estudo foi que tanto o sulfato de magnésio como o valproato de sódio bloquearam a hiperlocomoção induzida por metilfenidato. O efeito do valproato de sódio, uma droga clinicamente eficaz no episódio maníaco, corrobora a validade do modelo, enquanto o efeito do sulfato de magnésio reforça os achados clínicos preliminares que sugerem uma utilidade potencial desta substância na mania. Entretanto, o padrão de resposta foi diferente para o valproato e para o sulfato de magnésio: enquanto o primeiro foi efetivo apenas após o tratamento repetido, o segundo apresentou efeito apenas quando administrado agudamente. Em relação ao sulfato de magnésio, os dados são parcialmente consistentes com o descrito na literatura. Por exemplo, o bloqueio da hiperlocomoção observado agudamente no presente estudo é similar ao observado nos estudos clínicos, em que vários pacientes já apresentam melhora do quadro maníaco nos primeiros dias de tratamento (Heiden et al., 1999; Giannini et al., 2000), embora estes estudos tenham empregado esquema de associação com estabilizadores de humor. A ausência de efeito após o tratamento crônico também é coerente com o descrito por Poleszak et al. (2005), que observaram que a administração repetida de $MgCl_2$ em ratos não induz o efeito tipo antidepressivo no teste de natação forçada, efeito que foi encontrado após administração aguda. Por outro lado, em camundongos, espécie usada no presente estudo, o efeito antidepressivo do magnésio foi observado tanto após o tratamento agudo como crônico (Poleszak et al., 2004). Em relação ao bloqueio da hiperlocomoção induzida por metilfenidato, esta tolerância após a administração repetida pode ser indicativa de uma tolerância em relação ao efeito antimaníaco ou pode ser específica do

modelo empregado. Apesar dos efeitos observados no presente estudo e dos resultados clínicos, o magnésio também tem sido descrito como elemento com efeitos similares a estimulantes como cocaína e anfetamina (Kantak, 1989). Estes estudos reforçam a noção de que o Mg^{2+} associa-se a uma forte influência na ação das catecolaminas do cérebro e que o seu efeito comportamental seria similar ao de drogas estimulantes (Izenwasser et al. 1986). O efeito de baixas dosagens de $MgCl_2$ seria excitatório e estaria provavelmente relacionado á estimulação de sistemas noradrenérgicos (NE) e dopaminérgicos (DA) enquanto os efeitos inibitórios estariam relacionados a altas dosagens e seria provavelmente devido à uma hiperestimulação dos sistemas NE e DA. Considerando o magnésio como droga com efeitos semelhantes aos psicoestimulantes e associando ao fato de que a administração repetida de psicoestimulantes poderia resultar na sensibilização do seu efeito com conseqüente aumento das atividades locomotoras induzidas pela droga a cada sucessiva administração (Eckermann et al, 2001), o uso repetido do magnésio poderia associar-se a fenômenos de sensibilização de seus efeitos e na produção do aumento da atividade locomotora em associação ao metilfenidato, induzindo um resultado falso negativo neste modelo. Esta questão pode ser estudada pelo emprego de outros modelos de mania (p.ex. hiperlocomoção induzida por privação de sono paradoxal). Outro fator que pode ter contribuído para a discrepância entre os efeitos da administração repetida de sulfato de magnésio no teste de natação forçada (Poleszak et al., 2004) e na hiperlocomoção induzida por metilfenidato pode ser a dose administrada (30 mg/kg no primeiro e 400 mg/kg no segundo teste).

Um dos possíveis alvos da ação do sulfato de magnésio poderia ser o sistema glutamatérgico, via receptor NMDA, uma vez que o tratamento com a d-serina reverte seu efeito antidepressivo no teste de natação forçada (Poleszk et al. 2008; Szewczyk et al., 2008). Neste sentido, Donzanti et al. (1984) verificaram que a injeção intra-accumbens de magnésio inibiu a resposta de hipermotilidade induzida pelo ácido N metil-aspártico. Outra possibilidade seria a PKC, uma vez que depleção de Mg^{2+} pode estar associada a hiperatividade da PKC, embora o sulfato de magnésio exerça uma ação complexa, pois participa da sua inibição, mas também é um co-fator para sua atividade catalítica. Esta hipótese é reforçada pela observação de que os psicoestimulantes ativam a PKC e a sua inibição reduz o efeito hiperlocomotor dos psicoestimulantes (Browman et al., 1998; Sabioni et al., 2008). É interessante notar que o aumento da concentração de magnésio em eritrócitos de pacientes com transtorno bipolar vem sendo considerado como um importante elemento no mecanismo de ação dos estabilizadores de humor (Nechifor, 2008).

Os resultados do valproato também são coerentes com os dados da literatura. Por exemplo, a ineficácia do tratamento agudo com valproato está de acordo com o observado por Arban et al. (2005) que também não observaram efeito agudo desta substância (75-300 mg/kg) na hiperlocomoção induzida por d-anfetamina (1,25 mg/kg) em camundongos, sendo eficaz apenas na hiperlocomoção induzida pela associação clordiazepóxido + d-anfetamina. Por outro lado, Eckermann et al. (2001) verificaram que o valproato de sódio (50-200 mg/kg), em doses similares ao empregados no presente estudo, bloqueou a hiperlocomoção induzida por metilfenidato (2,5 mg/kg) em ratos. Esta

discrepância pode ser decorrente da dose de psicoestimulante utilizada, como observado com a hiperlocomoção induzida por anfetamina, em que o efeito do valproato é dependente da dose de anfetamina empregada: eficaz quando se emprega 1,5 mg/kg de anfetamina e ineficaz quando se utiliza 3,0 mg/kg (Eckermann et al., 2001). Já em relação ao tratamento repetido, Frey et al. (2006) observaram que administração repetida de valproato bloqueou a hiperlocomoção induzida pela administração repetida de anfetamina em ratos, resultado consistente com o observado no presente estudo com camundongos. Deve ser ressaltado que os efeitos do sulfato de magnésio e do valproato de sódio na hiperlocomoção induzida por metilfenidato foram observados em doses que não alteram a locomoção *per se*, pois não se observou redução da locomoção nos grupos tratados com droga + salina em comparação com os grupos salina + salina.

A indução, em roedores, de hiperlocomoção por psicoestimulantes ou privação de sono paradoxal tem sido relacionada ao aumento da atividade e da energia observados nos pacientes maníacos (Einat, 2006). Nesta linha, em interessante estudo translacional, Perry et al. (2009) observaram padrões similares de aumento da atividade motora e da exploração de novos objetos no campo aberto de pacientes bipolares e de camundongos knock-out para transportador de dopamina. Em todos os experimentos do presente estudo o metilfenidato aumentou a locomoção nos grupos pré-tratados com salina, indicando a validade de face do modelo. Por outro lado, neste modelo, tem sido proposto que os psicoestimulantes (p.ex. d-anfetamina) induzem também um aumento da exploração das áreas centrais do campo aberto (Einat et al., 2007), o que poderia ser um correlato do prejuízo da avaliação de risco

frequentemente observada em pacientes maníacos (Einat, 2006; Einat et al., 2007). No presente estudo, o efeito do metilfenidato na exploração de áreas centrais foi inconstante, sendo observado no experimento com valproato agudo e no experimento crônico, mas não no experimento com sulfato de magnésio agudo. Esta inconsistência pode ter sido devido ao emprego de uma dose limítrofe para este efeito, sendo necessária uma curva dose-reposta para verificar esta possibilidade. Com relação ao experimento agudo com o valproato, o metilfenidato apresentou uma tendência no aumento da atividade motora na área central em todos os grupos, exceto na dose de 200 mg/kg. No experimento crônico, o metilfenidato aumentou a locomoção central, exceto no grupo valproato. Estes resultados são coerentes com a proposta deste comportamento como representativo da sintomatologia da mania (Einat, 2006). Feusner et al (2009) descreve que a indução do *grooming* patológico pode ser utilizada como modelo animal do transtorno obsessivo-compulsivo (TOC) e que os agonistas dopaminérgicos podem causar comportamentos estereotipados em animais e podem exacerbar os sintomas de TOC e tics. Entretanto, no estudo crônico houve redução do *grooming* após a administração de metilfenidato nos grupos salina e sulfato de magnésio. Uma possibilidade seria que um aumento da atividade dopaminérgica associada à ação do metilfenidato poderia produzir um aumento do comportamento estereotipado e, conseqüentemente, uma diminuição do *grooming*. Entretanto, embora alguns poucos animais apresentassem comportamento de saltos (*jumping*), não se observou estereotipia nos camundongos. Outra possibilidade poderia ser que diferenças em relação ao ambiente de teste contribuiriam para esta discrepância, uma vez que o efeito excitatório de psicoestimulantes é

acentuado em aparatos com maior área e que a apresentação de um comportamento (p.ex. locomoção) diminui o do outro (p.ex. *grooming*). É interessante notar que, similar ao observado na locomoção, o valproato bloqueou o efeito do metilfenidato.

Concluindo, os dados do presente estudo reforçam a validade da hiperlocomoção induzida por psicoestimulante como modelo de mania e indicam um potencial efeito antimaníaco da administração aguda de sulfato de magnésio.

Agradecimentos: A farmacêutica Silvia N. Cordazzo pelo auxílio técnico; RA recebeu bolsa de produtividade em pesquisa, CNPq.

Conflito de interesse: nenhum

Referências

1. Arban R, Maraia G, Brackenborough K, Winyard L, Wilson A, Gerrard P, Large C. Evaluation of the effects of lamotrigine, valproate and carbamazepine in a rodent model of mania. *Behav Brain Res*, 2005, 158, 123-32.
2. Barbier E, Wang JB. Antidepressant and anxiolytic like behaviors in PKCI/HINT1 knockout mice associated with elevated plasma corticosterone level. *BMC Neurosci*, 2009, 10,132.
3. Bowden CL. Pharmacological treatment of bipolar disorder: a review. In: *Bipolar Disorders. WPA Series: Evidence and Experience in Psychiatry vol 5*. Ed. Maj M, Akiskal HS, Lopez-Ibor JJ, Sartorius N, John Wiley & Sons, Chichester, 2002, 191-277.
4. Browman KE, Kantor L, Richardson S, Badiani A, Robinson TE, Gnegy ME. Injections of protein kinase C inhibitor Ro31-8220 into the nucleus accumbens attenuates the acute response to amphetamine: tissue and behavior studies. *Brain Res*, 1998, 814, 112-119.
5. Cardoso C, Lobato K, Binfare R, Ferreira P, Rosa A, Santos AR, Rodrigues AL. Evidence for the involvement of the monoaminergic system in the antidepressant-like effect of magnesium. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2009, 33, 235-242.
6. Chouinard G, Beauclair L, Geiser R, Etienne P. A pilot study of magnesium aspartate hydrochloride (magnesiocard) as mood stabilizer for

- rapid cycling bipolar affective disorders patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1990, 14, 171-80.
7. Donzanti BA, Uretsky J. magnesium selectively inhibits N-methyl-aspartic acid-induced hypermotility after intra-accumbens injection. *Pharmacol Biochem Behav*, 1984, 20, 243-246.
 8. Eckermann K, Beasley A, Yang P, Gaytan O, Swann A, Dafny N. Methylphenidate sensitization is modulated by valproate. *Life Sci.* 2001, 69, 47-57.
 9. Einat H, Yuan P, Szabo S, Dogra S, Manji HK. Protein kinase C inhibition by tamoxifen antagonizes manic-like behavior in rats: implications for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Neuropsychobiology* 2007, 55, 123-131.
 10. Einat H. Modeling facets of mania – new directions related to the notion of endophenotypes. *J Psychopharm* 2006, 20, 714-722.
 11. Euser AG, Cipolla MJ. Magnesium sulphate for the treatment of eclampsia: a brief review. *Stroke*, 2009, 40, 1169-1175.
 12. Feusner JD, Hembacher E, Phillips KA. The mouse who couldn't stop washing: pathologic grooming in animals and humans. *CNS Spectr*, 2009, 14, 503-13.
 13. Freitas DM, Castro MMCA, Geraldés C. Is competition between Li⁺ and Mg²⁺ the underlying theme in the proposed pharmacological action of lithium salts in bipolar disorder? *Acc Chem Res*, 2006, 39, 283-291.
 14. Frey BN, Valvassori, SS, Réus GZ, Martins, MR, Petronilho FC, Bardini K, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Quevedo J: Effects of lithium and valproate on

- amphetamine induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *Rev Psychiatr Neurosci*, 2006, 31, 326-332.
15. Giannini A J, Naconeczie AM, Melemis SM, Ventresco J, Condon M. Magnesium oxide aummentation of verapamil maintenance therapy in mania. *Psychiatry Res*. 2000, 93, 83-7.
 16. Golan H, Kashtuzki I, Hallak M, Sorokin Y, Huleihel M. Maternal hypoxia during pregnancy induces fetal neurodevelopmental brain damage: partial protection by magnesium sulfate. *J Neurosci Res*. 2004, 78, 430-411
 17. Gould T, Einat H, Bhat R, Manji, H. AR-A014418, a selective GSK-3 inhibitor, produces antidepressant-like effects in the forced swim test. *Int J Neuropsychopharm*, 2004, 7, 387-390.
 18. Hannun Y, Bell R. Rat Protein Kinase C. Kinetic analysis of substrate dependence, allosteric regulation, and autophosphorilation. *J Biol Chem*, 1990, 265, 2962-2972.
 19. Heiden A, Frey R, Presslich O, Blasbichler T, Smetana R, Kasper S: Treatment of severe mania with intravenous magnesium sulphate as a supplementary therapy. *Psychiatry Research*, 1999, 89, 239-246.
 20. Henrotte J, Franck G, Santarromana M, Francês H, Mouton, Motta R. Mice selected for low and high blood magnesium levels: a new model for stress studies. *Physiol & Behav*, 1997, 61, G53-G58.
 21. Izenwasser SE, Garcia_Valdez K, Kantak KM. Stimulant-like effects of magnesium on aggression in mice. *Pharmacol Biochem & Behav*, 1986, 25, 1195-1199.

22. Kantak KM, Adlerstein LK. Enhancement of apomorphine and l-amphetamine-induced behaviors by magnesium. *Pharmacol Biochem & Behav*, 1990, 36, 29-33.
23. Kantak KM. Magnesium alters the potency of cocaine and haloperidol on mouse aggression. *Psychopharmacol* 1989, 99, 181-188.
24. Kantak K. Magnesium deficiency alters aggressive behavior and catecholamine function. *Behavioral Neuroscience*. 1988, 102, 3004-311.
25. Kapczinski F, Dias VV, Kauer Sant'Anna M, Brietzke E, Vázquez GH, Vieta E, Berk M. The potential use of biomarkers as an adjunctive tool for staging bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psych*. 2009, 33(8), 1366-71.
26. Keck Jr P, Manji H. Current and emerging treatments for acute mania and long-term prophylaxis for bipolar disorder. In: *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. Edited by Kenneth L. Davis, Dennis Charney, Joseph T. Coley, and Charles Nemeroff. American College of Neuropsychopharmacology, 2002, 1109-1118.
27. Libien J, Sacktor, CT; Kass IS. Magnesium blocks the loss of protein kinase C, leads to a transient translocation of PKC_{alpha} and PKC_{epsilon}, and improves recovery after anoxia in rat hippocampal slices. *Mol Brain Res*, 2005, 136, 104-111.
28. Manji HK, Chen G. PKC, MAP kinases and the bcl2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers. *Mol Psychiatry*, 2002, 7, s46-s56.
29. Manji HK, Lenox R. The nature of bipolar disorder. *J Clin Psychiatry*, 2000, 61 [suppl 13], 42-57.

30. Morton WA, Stockton GG. Methylphenidate abuse and psychiatric side effects. *J Clin Psychiatry*, 2000, 2, 159-164.
31. Murck H. Magnesium and affective disorders. *Nutritional Neuroscience*, 2002, 5, 375-389.
32. Nechifor M. Magnesium in major depression. *Magnesium Res.* 2009, 22, 163s-6s.
33. Nechifor M. Interactions between magnesium and psychotropic drugs. *Magnesium Res*, 2008, 21, 97-100.
34. Nechifor M, Vaideanu C, Mindreci I, Boisteanu P. The influence of bipolar disorders treatment on plasmatic and erythrocyte levels of some cations. *Les ions métalliques en biologie et en médecine. Vol 9. Proceedings of 9th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine Held in Lisboa, Portugal, Europe on MAY 21-24, 2006.* John Libbey Eurotext.
35. Nunes P, Wacker P, Forleza O, Gattaz W. O uso do lítio em idosos: evidências de sua ação neuroprotetora. *Revista Psiq Clin*, 2002, 29, 248-205,2002.
36. Ong J, Brody, S Large, C Geyer, M. An investigation of the efficacy of mood stabilizers in rodent models of prepulse inhibition. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2005, 315, 1163-71.
37. Perlis R. Clinical decision making in the treatment of mania. *J Clin Psychiatry*, 2008, [suppl 5], 16-21.
38. Perry W, Minassian A, Paulus M, Young J, Kincaid MJ, Ferguson E, Henry BL, Zhuang X, Mastern V, Sharp RF, Geyer MA. A reverse-translational study of dysfunctional exploration in psychiatric disorders. From mice to men. *Arch Gen Psychiatry*, 2009, 66, 1072-80.

39. Poleszak E, Szewczyk B, Wlas A, Fideka S, Wlaz P, Pilc A, Nowak G. D-serine, a selective glycine/ N-methyl-D-aspartate receptor agonist, antagonizes the antidepressant-like effects of magnesium and zinc in mice. *Pharmacological Reports*, 2008, 60, 996-1000.
40. Poleszak E, Wlas P, Kedzierska E, Nieoczym D, Wyska E, Szymura-Oleksiak, Fidecka S, Radziwon-Zaleska M, Nowak G. Immobility stress induces depression-like behavior in the forced swim test in mice: effect of magnesium and imipramine. *Pharmacol Rep.* 2006, 58, 746-752.
41. Poleszak E, Wlas P, Kedzierza E, Radziwon-Zaleska M, Pilc A, Fidecka S, Nowak G. Effects of acute and chronic treatment with magnesium in the forced swim tests in rats. *Pharmacological Reports*, 2005, 57, 654-658.
42. Poleszak E, Szewczk B, Kedzierska E, Wlaz P, Pilc A, Nowak G. Antidepressant and anxiolytic activity of magnesium in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 2004, 78, 7-12.
43. Ryves WJ, Dalton EC, Harwood AJ, Williams RSB. GSK-3 activity in neocortical cells is inhibited by lithium but not carbamazepine or valproic acid. *Bipol Dis*, 2005, 7, 260-265.
44. Ryves WJ, Harwood A. Lithium inhibits Glycogen Synthase Kinase-3 by competition for Magnesium. *Biochem Biophys Res Comm*, 2001, 280, 720-725.
45. Sabioni P, Baretta, IP, Ninomiya EM, Gustafson L, Rodrigues AL, Andreatini R. The antimanic-like effect of tamoxifen: behavioural comparison with other PKC-inhibiting and antiestrogenic drugs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008, 32, 1927-31.

46. Saddock B, Saddock V. Manual de Farmacologia Psiquiátrica de Kaplan e Sadock. 4^a ed. – Porto Alegre: Artmed. 2007.
47. Szewczyk B, Poleszak E, Sowa-kucma M, Siwek M, Dudek D, Ryszewska Pokrasniewicz, Radziwon-Zaleska M, Opoka W, Czekaj J, Pilc A, Nowac G. Antidepressant activity of zinc and magnesium in view of the current hypotheses of antidepressant action. *Pharmacol Rep*, 2008, 60, 588-99.
48. Trindade CE. Magnésio e asfixia perinatal. *Rev Paul Pediatr*, 2006; 24, 4-5.
49. Turkoglu O, Eroglu H, Okutan O, Tun M, Bodur E, Sargon M, Oner L, Beskonakli E. A comparative study of treatment for brain edema: magnesium sulphate versus dexamethasone sodium phosphate. *J Clin Neurosci*. 2008 Jan;15, 60-5
50. Wójcik J, Dudek D, Schlegel-Zawadzka M, Grabowska M; Marcinek A, Florek E, Piekoszewski W, Nowac RJ, Włodzimierz O, Nowak G. Antepartum/postpartum depressive symptoms and serum zinc and magnesium levels. *Pharmacol Rep*. 2006, 58, 571-576.
51. Yathan L, Kusumakar V, Calabrese J, Rao R, Scarrow G, Kroeker G. Third generation anticonvulsants in bipolar disorder: A review of efficacy and summary of clinical recommendations. *J Clin Psychiatry* 2002, 63, 275-283.
52. Yildiz A, Guleryuz S, Ankerst D, Ongür D, Renshaw P. Protein Kinase C in the treatment of mania. *Arch Gen Psychiatry*. 2008, 65, 255-263.

CONCLUSÕES

Os dados do presente estudo reforçam a validade da hiperlocomoção induzida por psicoestimulante como modelo de mania e indica um potencial efeito antimaníaco da administração aguda de sulfato de magnésio.