

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC
CURSO DE MEDICINA

8.5 18/1072
Lbr

INFLUÊNCIA DE DROGAS ADMINISTRADAS DURANTE O PERÍODO NEO NATAL
SOBRE A APRENDIZAGEM EM RATOS QUANDO ADULTOS

FLORIANÓPOLIS

1977

BLANDINA BELLI

"Os animais são capazes de lembrar muitas coisas, entre elas, o local onde estiveram previamente. Experimento com ratos, sugere que essa espécie de memória está localizado em uma região do cérebro conhecido como hipocampo". (David S. Olton, Scientific American, pag 82, jun 1977).

"Em gatos implantados cronicamente, a administração de cloridiazepóxido, na dose de 5,0 mg por Kilo de peso, produziu significativa lentificação de atividade elétrica da amígdala, hipocampo e septum, mas não do córtex" (Schallek. N. Y. Acad. Sci 96: 303, 1962).

P R O P O S I Ç Ã O

O presente trabalho foi realizado em colaboração com o Dr. Ari Bertoldo Sell, professor da cadeira de Farmacologia da UFSC, o qual desenvolve pesquisa em psicofarmacologia, sobre a influência de drogas na infância, da qual participamos como bolsista de Iniciação a Pesquisa (?).

Sell em conjunto com Fonseca e Carllini (1975), demonstrou ^{na} que o Diazepan nas doses de 5,0 a 10 mg, injetados do 5º ao 45º dia de vida do rato, produzia efeito deletério sobre a aprendizagem na idade adulta, quando comparados ao grupo controle, no teste de aprendizagem realizado no labirinto tipo Leashley III.

Nosso objetivo seria o de observar dentro do período de 0 a 45 dias, qual o espaço de tempo no qual a injeção da droga ocasionaria mudanças mais significativas do comportamento destes animais, quando adultos.

O presente trabalho é uma nota prévia sobre resultados obtidos na injeção da droga do 0 ao 5º dia de vida do rato, sendo que a pesquisa engloba ainda os períodos de 0 ao 15º / dias, 15º ao 30º dias, 30º ao 45º dias e do 1º ao 45º dias.

Í N D I C E

0 - PROPOSIÇÃO p.0
1 - INTRODUÇÃO p.1
2 - MATERIAL p.2
3 - RESULTADOS ESTATÍSTICOS p.3
4 - DISCUSSÃO p.3
5 - SUMÁRIO p.4

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

ÍNDICE

ANEXOS.

I N T R O D U Ç Ã O

Estudando a ontogênese dos sistemas de ^{neuro}transmissores, sabemos que apesar das diferenças existentes entre cada espécie animal, temos certas características mais ou menos comuns a todas elas. Em toda a escala animal temos período de organogênese e multiplicação neuronal, período de crescimento cerebral rápido, período maduro e período de envelhecimento. (*?)

Usando-se uma técnica histoquímica de fluorescência, pode-se determinar, em ratos, que a proliferação de axônios terminais ocorre principalmente nos períodos: imediato antes do nascimento e no pós-natal próximo. Para os neurônios noradrenérgicos e serotoninérgicos a maior proliferação ocorre nas primeiras três semanas após o nascimento, enquanto que para os dopaminérgicos, nas primeiras 4 semanas. (**)

Tranquilizantes menores induzem sedação já em doses baixas, e lentificação do E E G cortical em doses elevadas (1), sugerindo que essas substâncias diminuem a atividade Neuronal.

É sabido que os benzodiazepínicos diminuem a atividade da amígdala e hipocampo, esta última envolvida com o processo de memória (9), quesito fundamental para haver aprendizagem (3,7,8,10). Já em doses elevadas, produzem lentificação do EEG cortical, por atuar sobre a atividade noradrenérgica dorsal. Essa via se origina no Locus Coeruleus e inerva o Meso cortex, o Neo cortex e a formação hipocampal (5).

Dobbing (*), em 1968, discute a vulnerabilidade do período neo natal a agentes externos, provocando efeitos físicos e comportamentais, que persistem na idade adulta, apesar de menos óbvias do que as grosseiras deformações provocadas por interferência na organogênese.

Baseados nessas afirmações, e no estudo de vários autores sobre a influência de diversas drogas em vários períodos (1,2,4), resolvemos partir para experiência laboratorial, em ratos, de drogas usadas habitualmente no período neo natal do homem.

Tendo em vista experiências de vários autores confirmando a hipótese de alterações comportamentais em ratos expostos a agentes externos no período de 0 a 45 dias (1, 2, 4), resolvemos verificar o período mais significativo para que tais modificações ocorram.

Como o diazepam relaciona-se com a área hipocampal (1), responsável pelo mecanismo da memória (9), estudamos seus efeitos através de testes de aprendizagem.

M A T E R I A L E M É T O D O

Ratos Wistar, fêmeas, de 3 meses de idade, foram colocados em caixas individuais, 15 dias após o cruzamento. Após o nascimento, a ninhada foi reduzida para 6 - 8 filhotes. Os animais foram desmamados aos 25 dias de vida, quando se fez a separação por sexo. Foram então colocados em gaiolas de arame, em grupo de 3 elementos, de acordo com o sexo e tratamento.

Foram mantidos em laboratório com ar condicionado, em temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 1$, com ciclo noite/dia de 12 horas. Cuidados diários dos animais foram feitos entre as 8 - 9 horas e consistem da limpeza da gaiola suprimento de água e comida ad libidum.

Não houve manuseio dos animais até a idade adulta, quando foram realizados os testes.

a) Tratamento por drogas:

os filhotes de 8 mães foram utilizados nessa fase da experiência, divididos em:

- grupo controle
- grupo droga

o grupo droga recebeu, do 0 (zero) ao 5º dia de vida, diariamente, injeções subcutâneas de Diazepam na dosagem de 5,0 mg/Kg de peso, dissolvido em saliva e tween 80.

O grupo controle recebeu saliva + solvente. As injeções foram feitas no dorso dos animais, num volume de 0,1 ml.

b) Procedimento:

b.1) Teste de aprendizagem: foi utilizado labirinto simples e labirinto tipo Lashley III para essa experiência. Ratos em jejum de 22 h foram colocados 2 vezes ao dia, 2 vezes por semana, numa pista reta, para aprenderem a fazer o percurso entre uma caixa de saída até uma de chegada que continha alimentos. Foram realizados 10 dias de treino (20 treinos).

Após este treino preliminar, os animais foram colocados em um aparelho Lashley III, 2 vezes por semana, com 2 treinos diários, num total de 20 sessões.

O tempo permitido para permanecer no Lashley III foi de 3 minutos e o reforço consistiu da permanência durante 30 segundos na caixa que continha alimento. Registrou-se em 15 sessões o número de erros e o tempo de corrida desde a caixa de saída até a caixa de chegada.

Considerou-se como critério satisfatório de aprendizagem para rato, quando ele, em 2 treinos consecutivos não efetuasse mais de 3 erros e o tempo de corrida não ultrapassasse 25 segundos.

b.2) Teste de memória: Após o término da experiência b.1, os animais foram submetidos a um teste de memória a curto prazo, no Shuttle box. O teste constitui do seguinte: cada animal foi colocado na parte iliminada deste aparelho, sendo que 10 segundos após, era aberto uma passagem para o lado escuro (local preferido por estes animais), e medido o tempo transcorrido até que o animal chegasse a esse lado.

Quando o animal chegava ao lado escuro, recebia nas patas, um choque, através de grade eletrificada. Era em seguida retirado e colocado em sua gaiola, para 24 horas após, repetir-se o mesmo procedimento, sem no entanto, haver o choque. O registro de tempo levado para entrar na caixa escura no 2º dia de teste é que foi considerado como medida de memória.

R E S U L T A D O S

Experiência 1: Lashey III

os resultados podem ser vistos nas figuras 1, 2, 3 e 4 na tabela I.

A análise dos gráficos não revelou diferenças significativas entre os grupos, sendo desnecessária a aplicação de testes estatísticos.

Experiência 2: Shuttle box.

os resultados podem ser observados nos gráficos 5 e 6. Pela análise dos gráficos, igualmente não se observam diferença entre os dois grupos.

D I S C U S S Ã O

Sabemos através de técnicas histoquímicas de fluorescência, que principalmente durante o período de 0 a 45 dias de vida, os níveis de metabólitos e precursores dos neurotransmissores cerebrais devem ser elevar até atingir um platô o qual persiste então até a fase adulta.

Sabe-se ainda, que ratos expostos a agentes externos / tais como fenobarbital, diazepam, haloperidol e clorpromazina, entre outros, durante o período neo-natal, apresentarão modificações comportamentais na fase adulta (4).

Os exatos inbricamentos entre esses diversos sistemas não se encontra totalmente estabelecido. No caso específico da memória, sabemos que sofre influência da via Noradrenérgica, a qual age sobre via hipocampal (5 ,).

O diazepam, como droga pertencente ao grupo dos tranquilizantes menores (6), provoca, nas doses utilizadas, lentificação da atividade elétrica da amídala, hipocampo e septum, por atuar sobre a via noradrenérgica dorsal (5).

Em nossa experiência observamos através de testes de a prendizagem, os quais requerem memória íntegra, não haver diferença significativa entre os ratos submetidos a injeções diárias de Diazepan na dosagem de 5,0 mg/Kg de pêso, durante o período de 0 a 5 dias de vida, e o grupo controle.

Comprovando esse resultado e conhecedores da opinião dos diversos autores citados, podemos propor:

1 - o tempo de exposição a droga não foi suficiente para produzir alterações indeléveis no amadurecimento neuronal;

2 - Esse período compreendido entre 0 a 5 dias de vida não é importante para o amadurecimento do sistema Noradrenérgico.

S U M Á R I O

Pesquisamos a influência da droga Diazepan na dosagem de 5,0 mg injetadas no período de 0 a 5 dias de vida em ratos, onde observamos não provocar alterações comportamentais quando adultos.

TABELA I - Nº total de ratos que atingiram o critério no Tashley III, nº total de animais, em 15 sessões.

	MACHOS	Fêmeas
Controle	10/12	9/13
Diazepan 5mg/Kg	17/19	8/11

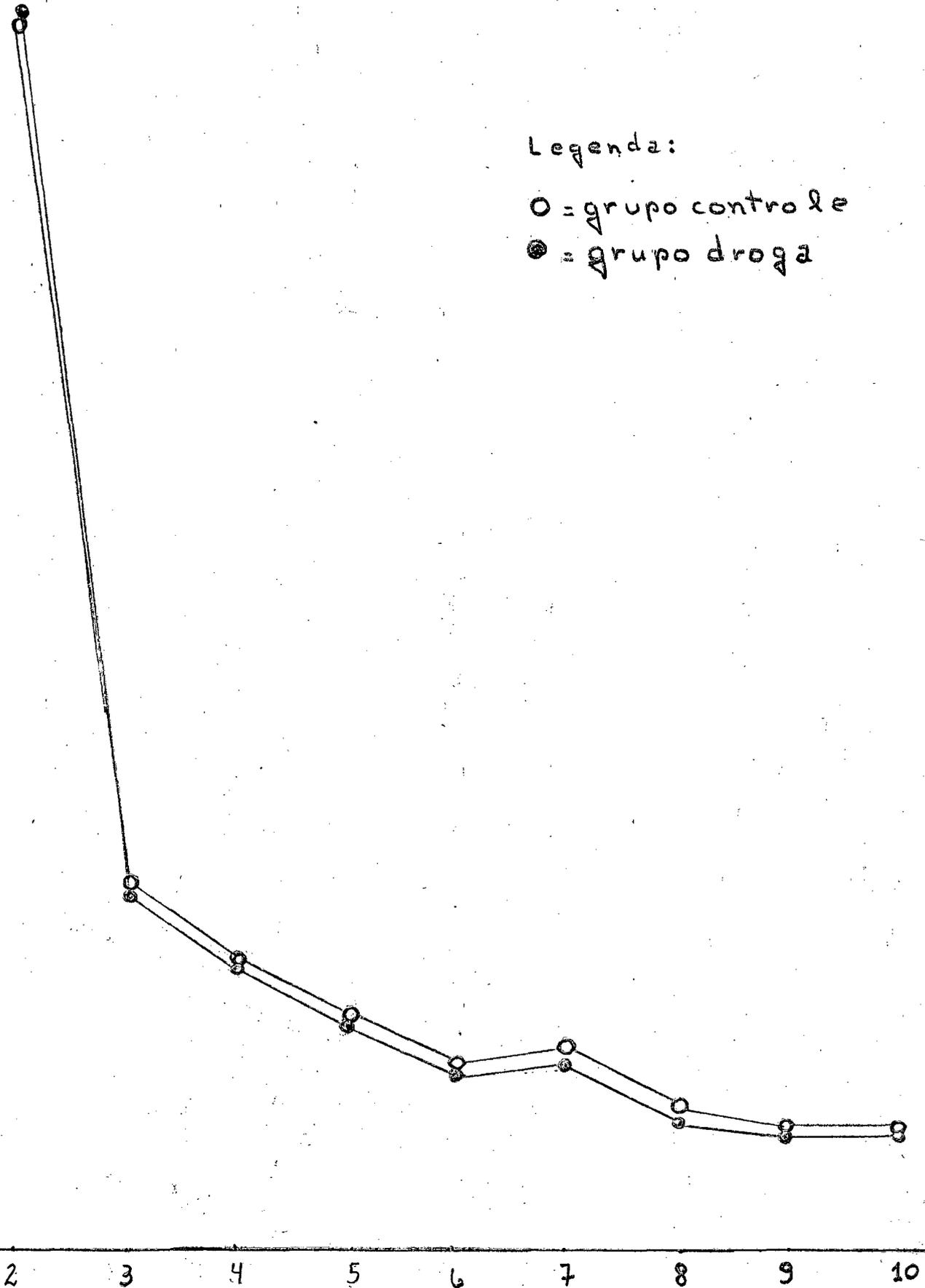
G.1 Mediana do tempo no Lashley III, em ratos machos, em 10 sessões, em animais tratados com droga e solução controle.

Posto:
(em segundos)

Legenda:

O = grupo controle

● = grupo droga

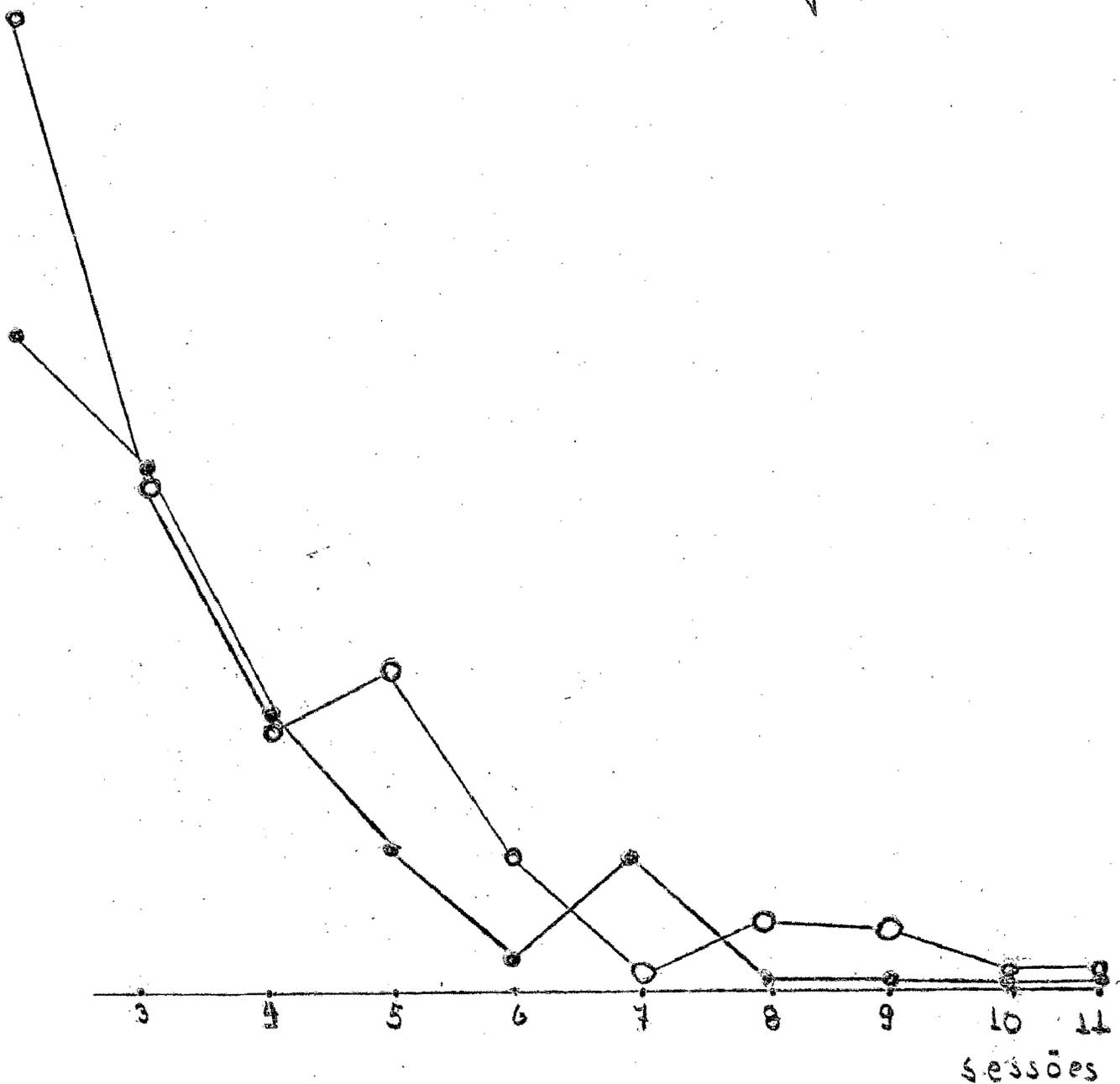


G.2 Mediana dos erros no Lashley III, em ratos machos, em sessões, em animais tratados com droga e com solução controle.

de
os

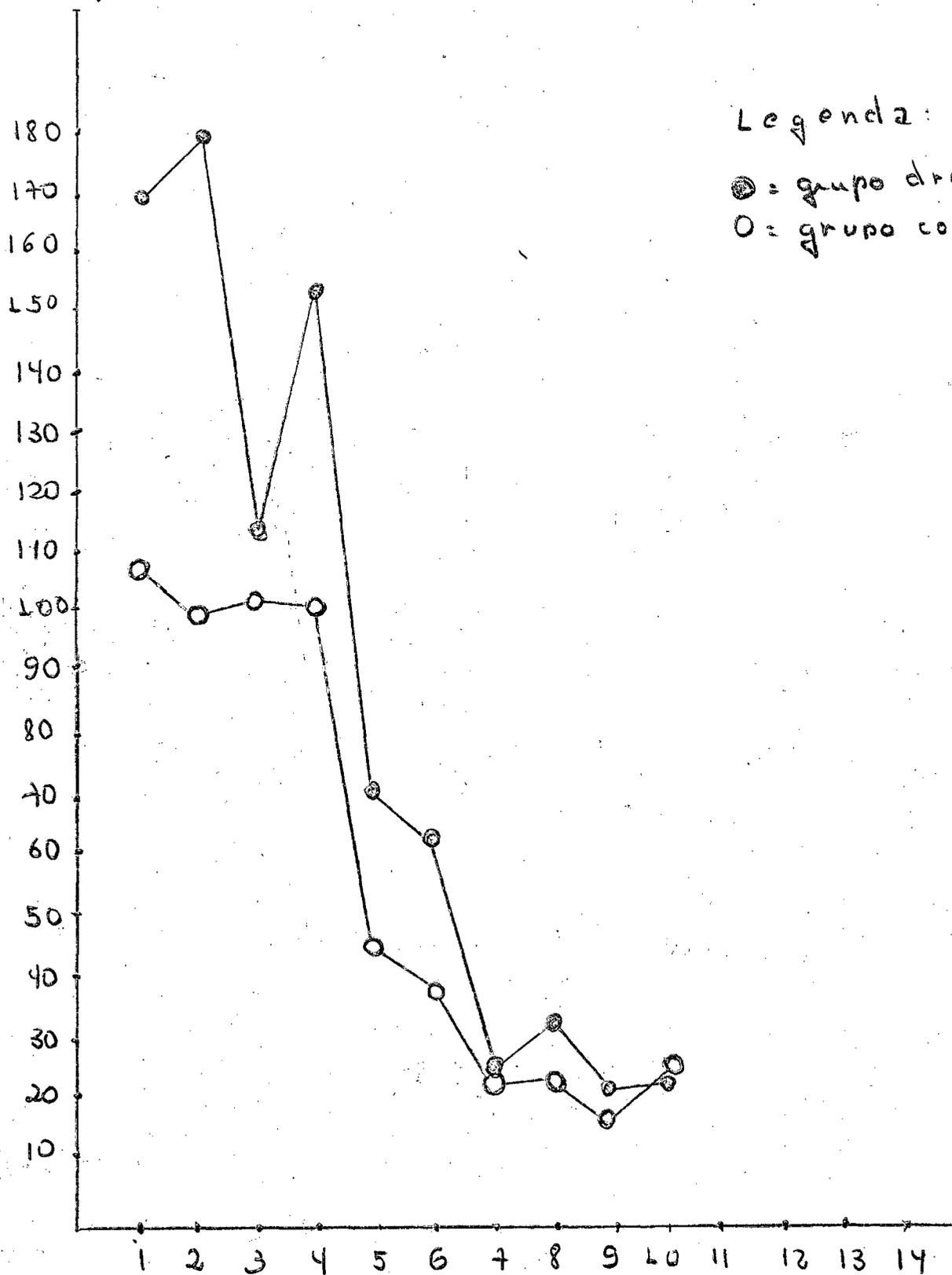
Legenda:

● : grupo droga
○ : grupo controle



G.3 Mediana de tempo no Lashley III, em ratos fêmeas, em 10 sessões, em animais tratados com droga e solução controle.

Resposta
(segundos)



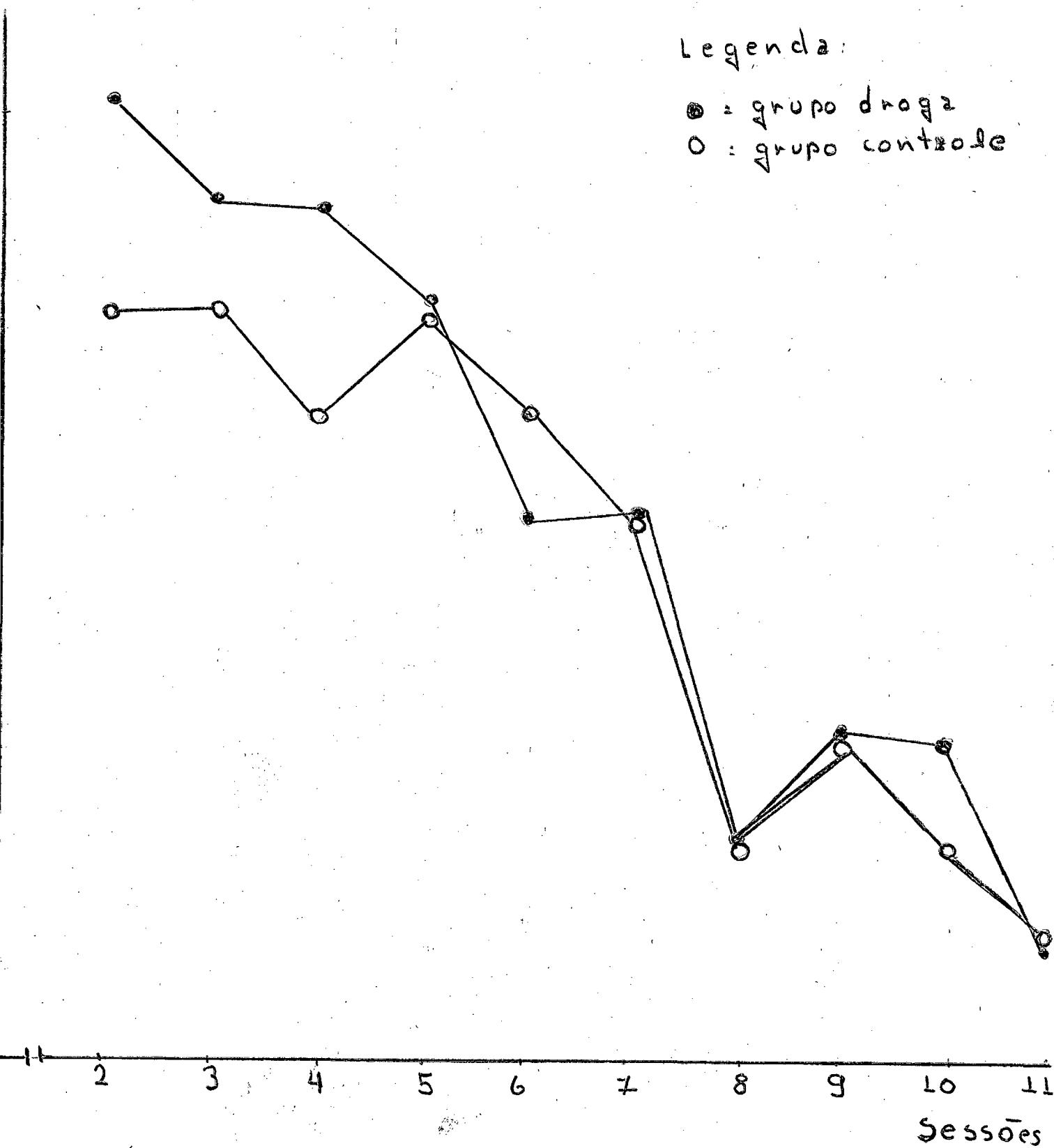
Sessões

G.4 Mediana de erros no Lashley III, em ratas fêmeas, em 10 sessões, em animais tratados com droga e com solução controle.

número
de erros

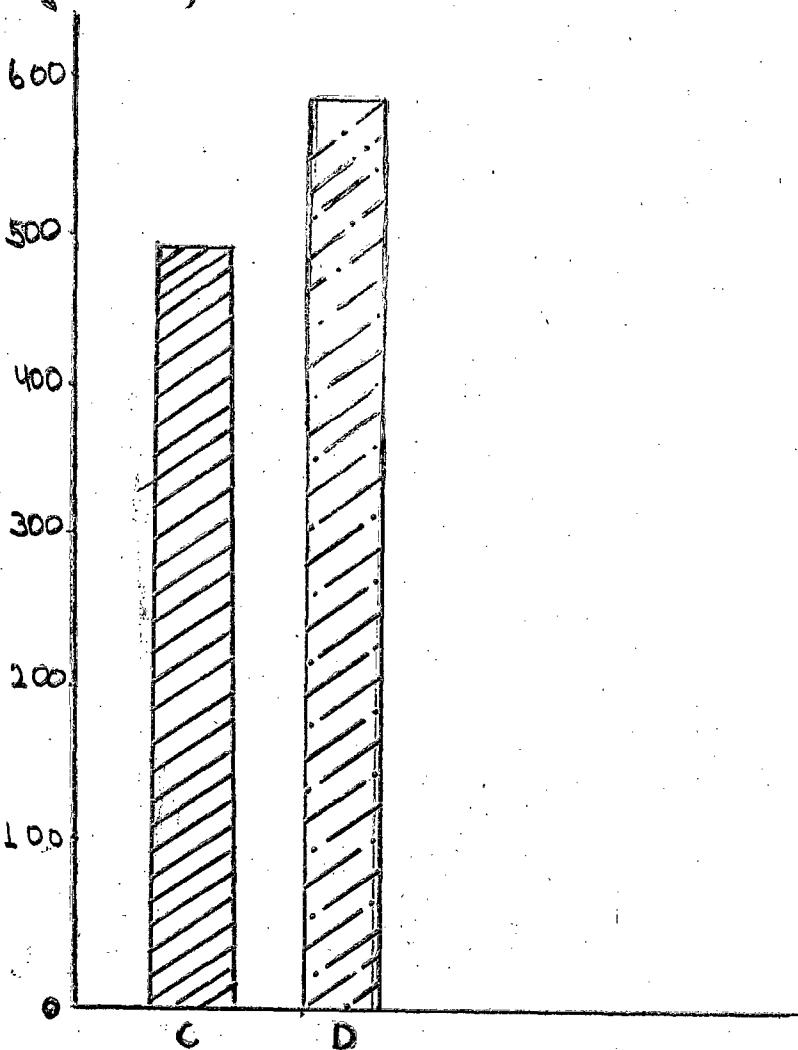
Legenda:

- = grupo droga
- = grupo controle



G.5 Mediana do tempo de saída no dia do teste, na esquiwa-passiva, em ratos machos.

esposta:
empo em
egundos)



Legenda:

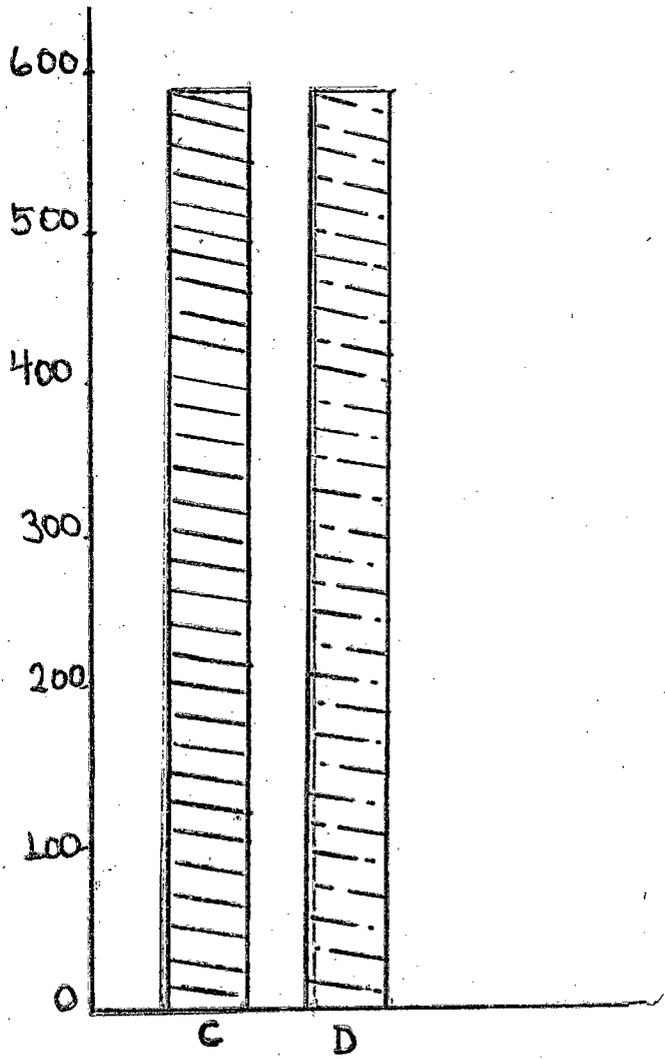
C: grupo-controle

D: grupo-droga

G.6 Mediana do tempo de saída no dia do teste, na esquivã-passiva, em ratas fêmeas.

Resposta:
(Tempo em segundos)

Legenda:
C = grupo-controle
D = grupo-droga



BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- AUCELIO, José Gilberto. Androgenização neo natal de cadelas. Aspectos endócrinos e comportamentais. São Paulo, 1975. 96 f.
- CALIXTO, João Batista. Aspectos endócrinos e farmacológicos da genitalia de ratos androgenizados ao nascer. São Paulo, 1976. 84 f.
- CAMPOS, D. M.S. Psicologia da Aprendizagem. Petrópolis. Editora Vozes, 1973.
- FONSECA, Norlândio M. et alli. Diferential behavioral responses of male and female adult rats treated with five psychotropic drugs in the neonatal stage. São Paulo, 1975. Separata de Psychopharmacologia, Berlim, 46: 263, 1976.
- FUXE, K., and cols, V. International: Review of Neurobiology, Academic Press, N.Y. pag 93 - 126, 1970.
- GILMAN, A. and GOODMAN, L. S. Rio de Janeiro. As Bases Farmacológicas da terapêutica. Editora Guanabara, Koogan, 1973.
- HILGARD, E.R. Teoria de Aprendizagem; São Paulo. E.P.U., 1973.
- MORGAN, C.T. - Psicologia Fisiologia. São Paulo, E.P.U., 1973.
- OLTON, D.S., Scientific American, pag 82, jun., 1977.
- SA WREY, J.M. Psicologia Educacional. Rio de Janeiro. Ao Livro Técnico, 1973.

**TCC
UFSC
TO
0059**

N.Cham. TCC UFSC TO 0059

Autôr: Belli, BLANDINA

Título: Influência de drogas administrat



972816055

Ac. 254204

Ex.1

Ex.1 UFSC BSCCSM