

sônia maria bourg



1150016086



FOP

T/UNICAMP B666L

LIMIAR CONVULSIVO, EM RATOS, APÓS
ADMINISTRAÇÃO DE p-CLOROFENILALANINA E
APÓS LESÃO ELETROLÍTICA DE NÚCLEOS DA RAFE

*Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campi-
nas, para obtenção do título de
Doutor em Ciências
(Neurofarmacologia)*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

412

PIRACICABA

1975

Ao Fernando, meu companheiro, pelo amor de sempre;
ao Paulo, ao Luís Roberto e ao Marco, pelas horas
roubadas; aos meus pais e aos meus tios, por mi -
nha formação.

Ao Katsumasa Hoshino e ao Carlos Gomes de Araújo,
pela amizade e pela colaboração inestimável na
realização deste trabalho.

Ao Prof.Dr.Antonio Carlos Neder, Professor Titular
de Farmacologia da Faculdade de Odontologia de Pi-
racicaba da Universidade Estadual de Campinas e

ao Prof.Dr.Armando Otávio Ramos, Professor Titular
de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas e
Biológicas de Botucatu,

pela oportunidade e orientação deste trabalho.

À memória do Professor Paulo Pinto Pupo.

Ao Prof.Dr.Katsumasa Hoshino, Professor Assistente Doutor de Neurofisiologia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, com quem aprendemos a metodologia empregada e pelo valioso apoio em todas as fases deste trabalho;

Ao Prof.Dr.Carlos Gomes de Araújo, Professor Assistente Doutor do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pelas indispensáveis sugestões e pela revisão do texto;

Ao Prof.Dr.Mário Rubens Guimarães Montenegro, Professor Titular de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela orientação e execução dos exames histológicos;

Ao Prof.Dr.Cecílio Linder, Professor Titular de Fisiologia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela acolhida na Disciplina;

Ao Prof.Dr.Fernando José de Nóbrega, Professor Titular de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pelo auxílio prestado em diferentes fases deste trabalho;

Aos Drs. Elias Rodrigues de Paiva e Neil Ferreira Novo da Disciplina de Bioestatística da Escola Paulista de Medicina e ao Dr. Cláudio A.R. Coelho, Professor Assistente Doutor do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela orientação na análise estatística;

Ao Dr. Fernando Gomes de Mello, Professor Assistente Doutor do Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela colaboração em todas as fases deste trabalho e pela montagem gráfica;

Ao Prof. Dr. Natalio Fejerman, Professor Auxiliar de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Buenos Aires e Professor Titular de Diagnóstico / Diferencial do Departamento de Psicologia da Faculdade de Filosofia e Letras da Universidade de Buenos Aires, pelas sugestões apresentadas;

Ao Dr. Osiris Esteves Pinto, Professor Assistente do Departamento de Neurologia e Psiquiatria da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela revisão do texto;

Ao Departamento de Neurologia e Psiquiatria da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela oportunidade;

A Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, pela colaboração prestada na fase experimental do trabalho;

As Acadêmicas Rosely Sichieri e Sonia Maria Lima Maldonado pela ajuda prestada na fase experimental;

Aos Docentes e Funcionários da Disciplina de Fisiologia pela colaboração quando utilizamos seus laboratórios e, em particular, ao Sr. Antonio Hernandez, pela indispensável colaboração na parte experimental;

Aos Docentes e Funcionários da Disciplina de Histologia pela colaboração no preparo dos cortes histológicos;

Aos Funcionários do Centro de Processamento de Dados da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, particularmente ao Sr. Rui Vieira de Moraes, pela realização dos cálculos estatísticos;

Aos Funcionários da Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, em particular à Bibliotecária-Chefe Fátima H.L. Goldoni, pelo auxílio prestado na obtenção do material bibliográfico;

Aos Funcionários do Biotério Central da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, particularmente ao seu responsável Sr. Modesto Bovolenta, pela sempre prestativa colaboração;

Aos Funcionários da Seção de Fotodocumentação Científica da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, particularmente ao Sr. José P. dos S. Mulford, pela execução do trabalho fotográfico;

Ao Sr. Alcides Aparecido Corvino, pela elaboração dos gráficos e figuras;

Aos Funcionários da Oficina Gráfica da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, particularmente ao seu Responsável Sr. José Carlos C. Carreira, pela impressão deste trabalho.

P R E F Á C I O

A Epilepsia, conhecida e estudada desde a antiguidade, é definida como a afecção crônica caracterizada por crises convulsivas recorrentes que dependem da descarga excessiva de população neuronal superexcitável.

A excitabilidade é propriedade essencial da célula nervosa, e os potenciais neuronais, espontâneos ou desencadeados por estímulo sináptico, dependem da estrutura molecular e do metabolismo intrínseco do neurônio, dos fenômenos eletrolíticos da membrana celular e do estado funcional das terminações nervosas.

Excluindo-se as convulsões sintomáticas, nas quais frequentemente é possível demonstrar substrato etiológico, as epilepsias funcionais ou idiopáticas possuem etiologia discutível, acreditando-se que decorram de disfunção associada a alteração do metabolismo cerebral. Extenso problema bioquímico envolve esse assunto, e as linhas experimentais de pesquisa têm se interessado pelo metabolismo cerebral oxidativo, pelo metabolismo do ácido glutâmico, do ácido gama-amino-butírico, da acetilcolina e das aminas cerebrais, fundamentalmente a 5-hidroxitriptami

na ou serotonina.

Com o desenvolvimento da neurofarmacologia, trabalhos têm sugerido que as aminas cerebrais exercem importante papel como mediadores químicos da transmissão sináptica e que vias neuronais contendo nor-adrenalina, dopamina e 5-hidroxitriptamina, atuam sobre a excitabilidade cerebral. As investigações nesse campo têm objetivado determinar se a serotonina exerce efetivamente papel importante nas convulsões, desde que drogas e procedimentos que alteram seu conteúdo cerebral frequentemente provocam mudanças na sensibilidade às convulsões desencadeadas por diferentes agentes convulsivantes.

No entanto, não existem, até o momento, provas inequívocas da interferência de mecanismos triptaminérgicos nos processos responsáveis pelas convulsões e se faz necessário precisar o papel desempenhado pela serotonina para que o desenvolvimento de pesquisas nesse campo possa permitir melhor compreensão dos mecanismos básicos da Epilepsia.

S I G L A S

Visando facilitar a leitura do texto, julgamos conveniente transcrever aqui as expressões correspondentes às siglas empregadas na redação do trabalho.

5-HT	=	serotonina
SNC	=	sistema nervoso central
5-HTP	=	5-hidroxitriptofano
MAO	=	monoaminoxidase
5-HIAA	=	ácido 5-hidroxiindolacético
pCPA	=	p-clorofenilalanina
ETC	=	eletrochoque
pCA	=	p-cloroanfetamina
NE	=	norepinefrina
CZ	=	cardiazol
ST	=	estricnina
DA	=	dopamina
$\bar{X}$	=	média
D.P.	=	desvio-padrão
C.V.	=	coeficiente de variação
F.V.	=	fontes de variação
G.L.	=	graus de liberdade
Q.M.	=	quadrado médio
F_{calc}	=	valor calculado de F
$F_{crít}$	=	valor crítico de F
D.M.S. _{5%}	=	diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade
t_{calc}	=	valor calculado de "t"
$t_{crít}$	=	valor crítico de "t"

I N D I C E

-INTRODUÇÃO	1
1. Limiar convulsivo e variação farmacológica do conteúdo cerebral de 5-HT.	5
1.1. Inibição da síntese de 5-HT na fase de hidroxilação, pela p-clorofenilalanina.	5
1.2. Inibição da síntese de 5-HT, na fase de descarboxilação	6
1.3. Interferência nos mecanismos de absorção e reserva.	6
1.4. Aumento da 5-HT pelo uso de triptofano e de 5-hidroxitriptofano.	7
1.5. Aumento da 5-HT pelo uso de inibidores da MAO.	7
1.6. Administração intracerebral de 5-HT.	8
2. Efeito de anticonvulsivantes sobre o conteúdo cerebral de 5-HT.	8
3. Sensibilidade às convulsões em animais que diferem quanto ao conteúdo cerebral de 5-HT	9
4. Conteúdo cerebral de 5-HT em animais que diferem quanto à sensibilidade às convulsões	9
-ANÁLISE CRÍTICA DA LITERATURA E PROPOSIÇÃO DE TRABALHO	13
-MATERIAL e MÉTODO	15
1. Animal de experimentação.	15
2. Grupos, Subgrupos e Momentos.	15

2.1. Grupo Controle.	15
2.2. Grupo com Depleção.	15
2.3. Grupo com Lesão Eletrolítica.	16
2.4. Grupo com Lesão Fictícia.	17
3. Procedimentos utilizados	18
3.1. Determinação do limiar convulsivo	18
3.2. Lesão Eletrolítica de núcleos rafeanos. . .	26
3.3. Lesão Fictícia de núcleos rafeanos.	27
3.4. Preparo e administração da pCPA	27
3.5. Observação do comportamento	27
3.6. Análise histológica	27
3.7. Estudo estatístico	28
-RESULTADOS.	29
Grupo Controle	31
Grupo com Depleção	32
Grupo com Lesão Fictícia.	38
Grupo com Lesão Eletrolítica.	41
Valores individuais do limiar convulsivo ao cardiazol	47
Valores individuais do limiar convulsivo à <u>estricnina</u>	48
Evolução comportamental dos animais	49
Estudo histológico.	51
-DISCUSSÃO	61
1. Do Material e Método	61
1.1. Animal de experimentação.	61
1.1.1. Espécie	61
1.1.2. Idade.	61

1.2. Escolha dos Momentos.	62
1.2.1. No Grupo com Depleção.	62
1.2.2. No Grupo com Lesão Eletrolítica.	62
1.2.3. No Grupo com Lesão Fictícia.	63
1.3. Avaliação do limiar convulsivo.	63
1.4. Lesão eletrolítica.	64
1.5. Escolha da p-clorofenilalanina.	64
1.6. Alteração comportamental.	65
1.7. Escolha dos agentes convulsivantes.	65
2. Dos Resultados	67
2.1. Grupo com Depleção.	67
2.2. Grupo com lesão	75
2.2.1. A lesão	75
2.2.2. A lesão fictícia	76
2.2.3. A lesão eletrolítica	77
2.3. Análise conjunta dos Grupos Lesão Eletrolítica e Depleção, e dos possíveis mecanismos reguladores da sensibilidade às convulsões	83
-RESUMO	95
-CONCLUSÃO	97
-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	98

I N T R O D U Ç Ã O

A 5-hidroxitriptamina (5-HT), ou serotonina , monoamina amplamente difundida no reino animal e vegetal , desde sua descoberta, por RAPPORT, GREEN & PAGE (1948) , vem sendo exaustivamente estudada. A complexidade fisiológica, a provável função neurotransmissora e a possível intervenção na patogênese de algumas doenças humanas, legaram à 5-HT o papel de destaque que atualmente apresenta.

Nos vertebrados, a serotonina localiza-se, particularmente, no sistema nervoso central (SNC), nas células argentafins do tubo digestivo e nas plaquetas sanguíneas (VILLELA e col., 1961).

No SNC de ratos demonstrou-se, por meio de técnicas de histofluorescência, que as terminações nervosas / que contêm 5-HT originam-se nos corpos celulares localizados nos núcleos rafeanos do tronco cerebral e mesencéfalo (DAHLSTROM & FUXE, 1964). Desses locais projetam-se neurônios ascendentes para áreas anteriores do SNC e descendentes para a medula espinhal. Conforme pode ser observado na Figura 1, as vias ascendentes originam-se principalmente dos corpos celulares triptaminérgicos mesencefálicos (grupos neuronais B₇, B₈ e B₉ de DAHLSTROM & FUXE). As vias

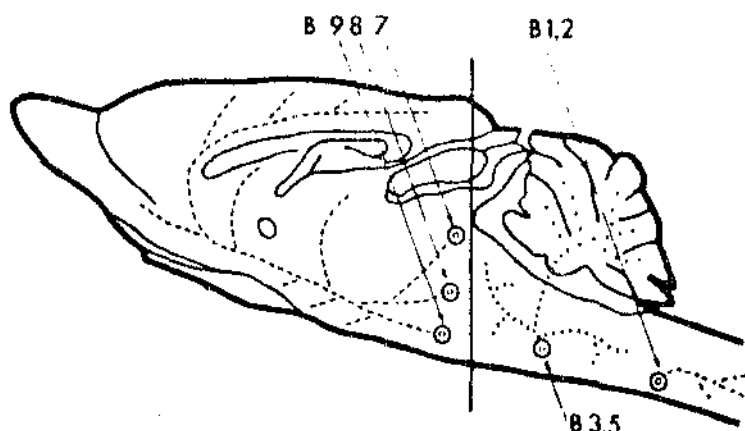


Figura 1 - Figura esquemática dos neurônios triptaminérgicos no cérebro de rato. Vias ascendentes (----), vias descendentes (.....) e neurônios curtos (.....). Reproduzido de BARCHAS & USDIN (1973).

descendentes originam-se dos corpos celulares triptaminérgicos da medula oblonga (B_1 e B_2). Provavelmente, existem neurônios triptaminérgicos curtos enervando principalmente o tronco cerebral inferior (B_3 e B_5) (DAHLSTROM e col., 1973).

A 5-HT é formada pela hidroxilação do triptofano da dieta que se transforma em 5-hidroxitriptofano / (5-HTP) em reação catalisada pela triptofano - hidroxilase. O 5-HTP, por sua vez, é descarboxilado pela 5-HTP - descarboxilase, convertendo-se em 5-HT. A monoamino

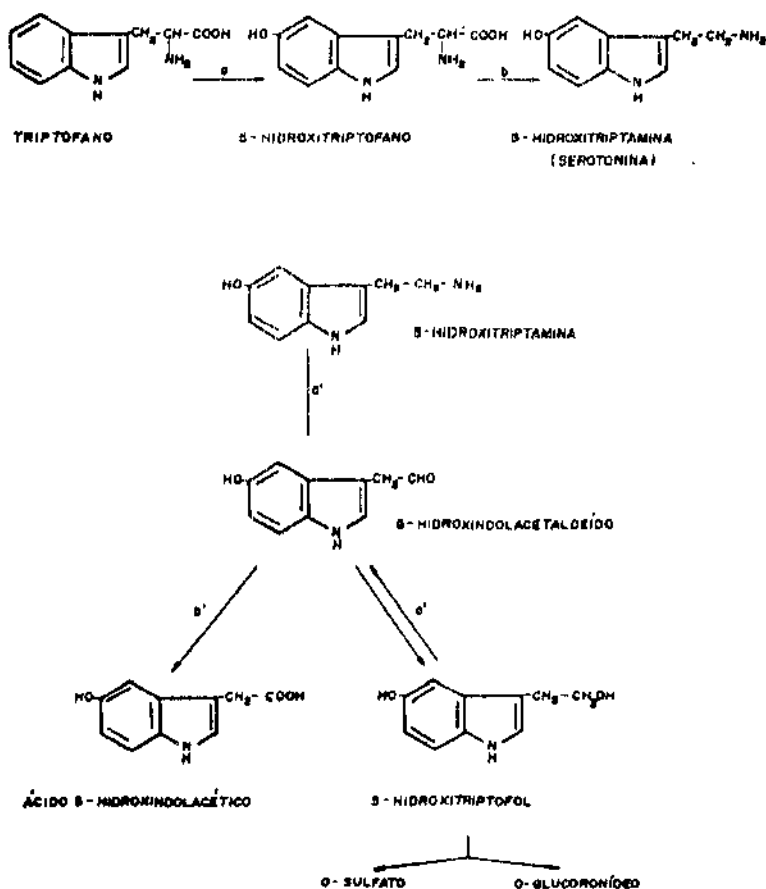


Figura 2 - Biossíntese e degradação da serotonina

(a = triptofano-5-hidroxilase;
 b = 5-hidroxitriptofano-descarboxilase;
 a' = monoaminoxidase;
 b' = aldeído-desidrogenase;
 c' = álcool-desidrogenase).

xidase (MAO) remove o grupo amínico e converte a 5-HT no seu produto de excreção urinária, o ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (Figura 2). Pequenas quantidades são excretadas como conjugados do ácido glucurônico e sulfatos / esterificados (VAN PRAAG, 1970).

A avaliação funcional da 5-HT no SNC tem se baseado na correlação entre a função que se pretende estudar e a variação do conteúdo cerebral da amina.

Graças ao desenvolvimento de técnica de histo-fluorescência, os neurônios triptaminérgicos foram localizados no rato e foi possível então abordá-los diretamente. Assim, lesões dos núcleos rafeanos que contêm o maior contingente de neurônios triptaminérgicos ascendentes resultam em diminuição dos níveis de 5-HT (ANDÉN e col., 1965; HELLER & MOORE, 1965; ANDÉN e col., 1966; JOUVET e col., 1966; SHEARD & FREEDMAN, 1967; POIRIER e col., 1969; PUJOL e col., 1971; LORENS e col., 1971; SHEARD, 1973 e LORENS & GULDBERG, 1974) e a estimulação elétrica dessas áreas acelera a síntese e a liberação da amina (AGHAJANIAN e col., 1967). Por outro lado, drogas que exercem ação relativamente específica no seu metabolismo (inibidores enzimáticos como a p-clorofenilalanina) (KOE & WEISSMAN , 1966a) ou que bloqueiam os mecanismos de absorção e reserva das vesículas sinápticas (reserpina, tetrabenazina, entre outros) (CHEN e col., 1954; CHEN e col., 1968 e SCHLESINGER e col. 1970) acarretam diminuição do conteúdo cerebral de 5-HT . Seu aumento é obtido com inibidores da MAO (nialamina, paragilina, feniprazina, entre outros) (PROCKOP e col., 1959; DE SCHAEPPDRYVER e col., 1962; PLOTNIKOFF e col., 1963), ou utilizando seus precursores (triptofano e 5-hidroxitriptó

iano) (CHEN e col., 1968; SCHLESINGER e col., 1970; De La TORRE & MULLAN, 1970 e BOGGAN & SEIDEN, 1973).

Muitas destas abordagens têm sido utilizadas para estudar a possível relação entre 5-HT e sensibilidade às convulsões. Os estudos visam, principalmente, determinar se a 5-HT se relaciona ou não com o mecanismo / convulsivo, e os trabalhos até agora realizados sugerem este fato, embora estejam longe de comprová-lo, como veremos a seguir.

1. Limiar convulsivo e variação farmacológica do conteúdo cerebral de 5-HT.

1.1. Inibição da síntese de 5-HT, na fase de hidroxilação, pela p-clorofenilalanina (pCPA).

A pCPA é um potente inibidor da triptofano - hidroxilase, impedindo, portanto, a síntese de 5-HT. Sua administração a animais diminui o conteúdo cerebral de 5-HT (KOE & WEISSMAN , 1966a) e reduz a intensidade de choque necessária para a extensão tônica em ratos (KOE & WEISSMAN , 1968) e em camundongos (CHEN e col., 1968). Administrada a ratos, durante três dias, na dose de 100 mg/kg por dia ou em dose única de 316 mg/kg, aumenta a sensibilidade às convulsões desencadeadas pelo cardiazol, 24 horas (De La TORRE e col., 1970) ou 48 horas após / sua administração (ALEXANDER & KOPELOFF, 1970). No entanto, seu uso protege camundongos de convulsões audiogênicas (ALEXANDER e col., 1971).

1.2. Inibição da síntese de 5-HT, na fase de descarboxilação.

O uso de um inibidor da 5-HTP- descarboxilase / (RO - 44602) não altera o limiar a convulsões audiogênicas em camundongos (BOGGAN, 1973) nem desprotege ratos de convulsões induzidas pelo cardiazol (De La TORRE & MULLAN, 1970).

1.3. Interferência nos mecanismos de absorção e reserva.

A reserpina, em camundongos, aumenta a sensibilidade às convulsões pelo eletrochoque (ETC), pelo cardiazol, pela cafeína e pela estricnina (CHEN e col., 1954), e às convulsões audiogênicas (SCHLESINGER e col., 1970). A tetrabenazina desprotege camundongos de convulsões induzidas pelo ETC (CHEN e col., 1968). O derivado da benzoquinolisina, o RO-1284, desprotege ratos de convulsões audiogênicas (JOBE, 1973). No entanto, outros compostos que também interferem no mecanismo de estoque, como a fenfluramina e cloro-metanfetamina, protegeram camundongos das convulsões audiogênicas (LEHMANN, 1970). A p-cloroanfetamina / (pCA), administrada a ratos, isoladamente ou com reserpina, aumenta o limiar convulsivo ao cardiazol embora diminua o conteúdo de 5-HT. Em camundongos esse efeito foi também / observado, embora o conteúdo de 5-HT não tenha se alterado (PFEIFER & GALAMBOS, 1967).

1.4. Aumento da 5-HT pelo uso de triptofano e de 5-hidroxitriptofano.

O 5-HTP protege camundongos de convulsões audiogênicas (SCHLESINGER e col., 1968), embora não os proteja de convulsões por eletrochoque (CHEN e col., 1968). Quando se administra 5-HTP isoladamente a ratos, estes não se tornam protegidos ao cardiazol. No entanto, sua associação a um inibidor da descarboxilase (RO-44602) torna efetiva essa proteção (De La TORRE & MULLAN, 1970). Baixas doses de RO-44602 não alteram a proteção às convulsões audiogênicas promovida em camundongos pela administração de 5-HTP. Todavia, doses elevadas, que bloqueiam tanto a descarboxilase periférica quanto a cerebral, impedem essa proteção (BOGGAN & SEIDEN, 1973).

1.5. Aumento da 5-HT pelo uso de inibidores da MAO.

Inibidores da MAO protegem ratos de convulsões induzidas pelo ETC (PROCKOP e col., 1959 e DE SCHAEPPDRYVER e col., 1962) e, camundongos de convulsões audiogênicas / (PLOTNIKOFF e col., 1963). No entanto, não protegem camundongos de convulsões induzidas pelo ETC (PLOTNIKOFF e col., 1963), embora outros autores tenham conseguido essa proteção (PROCKOP e col., 1959; DE SCHAEPPDRYVER e col., 1962 e SCHLESINGER e col., 1968).

1.6. Administração intracerebral de 5-HT.

SCHLESINGER e col. (1969) mostraram que a injeção intracerebral de 5-HT, no lobo frontal, protege camundongos de convulsões audiogênicas e de convulsões induzidas pelo cardiazol.

2. Efeito de anticonvulsivantes sobre o conteúdo cerebral de 5-HT.

Em 1957, BONNICASTLE e col. demonstraram que diferentes anticonvulsivantes elevam o nível de 5-HT cerebral em ratos. Embora o mecanismo dessa elevação permaneça obscuro, em relação ao pentobarbital há evidências de que ele ocorra por diminuição do "turnover" da amina e não por aumento de sua síntese (KUSHINSKY e col., 1973).

Com exceção do clonazepam, os benzodiazepínicos não elevaram o nível de 5-HT em camundongos (FENNESSY & LEE, 1972). No entanto, seu efeito ansiolítico foi reproduzido em ratos pela pCPA e por outros antagonistas da 5-HT, e seu efeito depressor, por antagonistas da nor-epinefrina (NE). Ambos os efeitos foram antagonizados por injeções intraventriculares de 5-HT e NE (WISE e col., 1972).

Empregando injeção intracisternal de serotonina marcada (5-HT-¹⁴C), CHASE e col. (1969) (1970) mostraram que fenobarbital, trimetadiona e diazepam não alteram a utilização inicial da amina. Entretanto, a difenilhidantoína exerce efeito relativamente rápido no transporte ou no metabolismo da 5-HT uma vez que eleva sua concentração seis

minutos após a administração da amina. Três horas após a injeção, o aumento da radioatividade total (^{14}C), nos animais tratados com difenilhidantoína ou diazepam, ou ainda com doses duplas de fenobarbital, refletiu elevação / dos níveis tanto de 5-HT- ^{14}C quanto de 5-HIAA- ^{14}C .

3. Sensibilidade às convulsões em animais que diferem quanto ao conteúdo cerebral de 5-HT.

Em diferentes gêneros e câpas de camundongos, SCUDDER e col. (1966) encontraram concentrações diversas, porém proporcionais, de aminas biogênicas no tecido cerebral. Assim, animais com níveis mais baixos de serotonina apresentavam igualmente níveis menores de dopamina e nor-epinefrina. Verificaram, ainda, relação entre a sensibilidade às convulsões pelo ETC e o teor global das aminas cerebrais, sendo que, nos animais com menor concentração delas, a sensibilidade era maior.

Camundongos de mesmo genótipo, que apresentam variação circadiana do conteúdo de 5-HT cerebral, são mais sensíveis às convulsões audiogênicas e por ETC à noite, quando o conteúdo da amina está diminuído, do que durante o dia, quando está elevado (SCHREIBER & SCHLESINGER, 1971).

4. Conteúdo cerebral de 5-HT em animais que diferem quanto à sensibilidade às convulsões.

Camundongos de duas câpas distintas e que diferem nitidamente quanto a sensibilidade às convulsões audiogênicas apresentam diferentes concentrações de 5-HT ce

rebral (SCHLESINGER e col., 1965 e KELLOG, 1971).

Camundongos previamente não susceptíveis às convulsões audiogênicas, quando sensibilizados com estímulo prévio, tornam-se altamente sensíveis a esse tipo de convulsão (HENRY, 1967 e BOGGAN e col., 1971), sem que haja alteração da concentração cerebral de 5-HT (BOGGAN, 1973). A administração prévia de 5-HTP não protege os animais das / convulsões, embora o faça se administrado após a sensibilização (BOGGAN e col., 1971).

A seguir, apresentamos quadros sinópticos da literatura relativos a experiências que envolvem 5-HT e sensibilidade às convulsões.

QUADRO I - Experimentos relacionando diminuição do conteúdo cerebral de 5-HT e sensibilidade às convulsões.

ANO	AUTOR(ES)	TRATAMENTO	AGENTE CONVULSIVANTE	ANIMAL	SENSIBILIDADE ÀS CONVULSÕES
1954	CHEN e col.	Reserpina	Cafeína, ETC, CZ e ST	Camundongo	Aumentada
1967	PFEIFER & CALAMBOS	pCA	CZ	Rato Camundongo	Diminuída
1968	CHEN e col.	pCPA	ETC	Camundongo	Aumentada
		Tetrabenazina	ETC	Camundongo	Aumentada
1968	KOE & WEISSMAN	pCPA	ETC	Rato	Aumentada
1970	ALEXANDER & KOPELOFF	pCPA	CZ	Rato	Aumentada
1970	De la TORRE e col.	pCPA	CZ	Rato	Aumentada
1970	LEHMANN	Fenfluramina c-metanfetamina	SOM	Camundongo	Diminuída
1970	SCHLESINGER e col.	Reserpina	SOM	Camundongo	Aumentada
1971	ALEXANDER e col.	pCPA	SOM	Camundongo	Diminuída
1973	BOGGAN	RO-44602	SOM	Camundongo	Inalterada
1973	JOHN	RO-1284	SOM	Rato	Aumentada

QUADRO II - Experimentos relacionando aumento do conteúdo cerebral de 5-HT e sensibilidade às convulsões.

ANO	AUTOR(ES)	TRATAMENTO	AGENTE CONVULSIVANTE	ANIMAL	SENSIBILIDADE AS CONVULSÕES
1959	PROCKOP e col.	Inibidor da MAO	ETC	Rato	Diminuída
1963	PLOTNIKOFF e col.	Inibidor da MAO	ETC	Camundongo	Inalterada
			SOM	Camundongo	Diminuída
1968	CHEN e col.	5-HTP	ETC	Camundongo	Inalterada
1968	SCHLESINGER e col.	5-HTP	SOM	Camundongo	Diminuída
		Inibidor da MAO	ETC	Camundongo	Diminuída
1969	SCHLESINGER e col.	5-HT intra-cerebral	Cz e SOM	Camundongo	Diminuída
1970	De la TORRE e MULLAN	5-HTP + NO-44602	Cz	Rato	Diminuída
1973	BOGGAN e SEIDEN	5-HTP	SOM	Camundongo	Diminuída

ANÁLISE CRÍTICA DA LITERATURA E PROPOSIÇÃO DE TRABALHO -

A análise da literatura mostra que os estudos de correlação entre sensibilidade às convulsões e 5-HT têm sido dirigidos para aspectos diversos. Os resultados não raramente são contraditórios. Esta situação decorre, em parte, das diferentes técnicas utilizadas para induzir convulsões e da multiplicidade de métodos empregados para atuar no sistema triptaminérgico. As convulsões experimentais (elétricas, droga-induzidas e audiogênicas, entre outras) não possuem mecanismos necessariamente iguais (BOGGAN, 1973). Além disso , os efeitos convulsivantes dos diversos agentes utilizados , de modo geral, são avaliados pela observação desarmada das crises convulsivas. Este método de determinar sensibilidade às convulsões pode contribuir para dificultar os estudos de correlação, desde que o padrão clínico das convulsões pode, às vezes, ser pouco preciso, como tivemos oportunidade de observar em experiências preliminares realizadas com cardiazol.

Embora realizada, mais comumente, pelo uso da pCPA, a atuação no sistema triptaminérgico tem sido feita empregando-se outras drogas com diferentes mecanismos de ação nesse sistema. Por outro lado, inexistem estudos de limiar convulsivo após lesão dos núcleos triptaminérgicos da rafe . Além disso, são escassos os estudos sistemáticos referentes ao comportamento temporal do limiar convulsivo, seja simples

mente após a administração de pCPA, seja estabelecendo correlação com a concentração cerebral de 5-HT, determinada em diferentes fases da depleção.

Tendo em vista as considerações acima, decidimos estudar o comportamento temporal do limiar convulsivo em duas situações que, sabidamente, provocam depleção acentuada do conteúdo cerebral de 5-HT: após administração de pCPA e após lesão eletrolítica dos núcleos triptaminérgicos da rafe.

Para estudar o comportamento temporal do limiar convulsivo nestas condições, empregamos registro de potenciais corticais e do tronco cerebral e duas drogas (cardiazol e estricnina) que permitem a avaliação funcional dos neuromecanismos excitatórios e inibitórios envolvidos nas convulsões.

M A T E R I A L e M É T O D O S

1. ANIMAL DE EXPERIMENTAÇÃO -

Utilizamos 153 ratos (Rattus norvegicus, variedade albinus), originariamente da raça WISTAR, machos, pesando 257 ± 50 gramas, procedentes do Biotério Central da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.

2. GRUPOS, SUBGRUPOS e MOMENTOS -

Os animais foram separados nos seguintes grupos:

2.1. Grupo Controle - dedicado à determinação do limiar convulsivo em animais sem tratamento prévio (administração de pCPA ou lesão eletrolítica dos núcleos da rafe) e formado por 18 animais. Este Grupo, de acordo com o convulsivante usado, foi separado nos Subgrupos CARDIAZOL (CZ) e ESTRICNINA (ST), cada um constituído por 9 animais.

2.2. Grupo com Depleção - dedicado à determinação do limiar convulsivo em 57 animais tratados com pCPA e igualmente formado pelos Subgrupos CARDIAZOL e ESTRICNINA, com 29 e 28 animais, respectivamente. Nestes Subgrupos, o limiar convul-

sivo foi determinado nos Momentos 24, 48, 96 e 192 horas após a administração de pCPA. O número de animais estudados, nos diferentes Momentos, para cada um dos Subgrupos, está indicado no Quadro III.

QUADRO III - Grupo com Depleção. Número de animais tratados com pCPA, nos diferentes Momentos, segundo os Subgrupos.

Momento em horas	Número de animais	
	Subgrupo CZ	Subgrupo ST
24	6	8
48	5	6
96	8	8
192	10	6

2.3. Grupo com Lesão Eletrolítica - dedicado à determinação do limiar convulsivo em 40 animais com lesão eletrolítica dos núcleos da rafe, igualmente formado pelos Subgrupos CARDIAZOL e ESTRICNINA, com 19 e 21 animais, respectivamente. Nestes Subgrupos o limiar convulsivo foi determina-

do nos Momentos 39, 59 e 79 dias após a lesão de núcleos rafeanos. O número de animais estudados, nos diferentes / Momentos, para cada um dos Subgrupos, está indicado no Quadro IV.

QUADRO IV - Grupo com Lesão Eletrolítica. Número de animais submetidos a lesão eletrolítica de núcleos rafeanos, nos diferentes Momentos, segundo os Subgrupos.

Momento em dias	Número de animais	
	Subgrupo CZ	Subgrupo ST
39	8	7
59	7	6
79	4	8

2.4. Grupo com Lesão Fictícia - utilizado como controle dos animais com lesão eletrolítica de núcleos da rafe, constituído por 38 animais e separados nos Subgrupos CARDIAZOL e ESTRICNINA, com 22 e 16 animais, respectivamente. Nestes Subgrupos os Momentos utilizados foram os mesmos do Grupo anterior e o número de animais, segundo / os Subgrupos e Momentos, acha-se indicado no Quadro V.

QUADRO V - Grupo com Lesão Fictícia. Número de animais submetidos a lesão fictícia, nos diferentes Momentos, segundo os Subgrupos.

Momento em dias	Número de animais	
	Subgrupo CZ	Subgrupo ST
39	5	5
59	5	4
79	12	7

3. PROCEDIMENTOS UTILIZADOS -

3.1. Determinação do limiar convulsivo -

Após pesagem e anestesia por inalação de éter em campânula de vidro, fixamos o animal em posição supina e mantivemos a anestesia mediante emprego de funil nasal contendo algodão embebido em éter. Dissecamos a veia femoral, pela qual passamos cateter de polietileno (PE 50), contendo heparina em solução fisiológica, na concentração de 1250 u/ml, e procedemos a traqueostomia. Na região dorsal do crânio, após tricotomia, injetamos, próximo aos meatos auriculares e por via subcutânea, 1 ml de xilocaína a 2% com vasoconstritor (adrenalina), visando utilização de menor em

prego de éter e redução do sangramento.

Realizamos incisão longitudinal e mediana da pele que recobre o crânio, desde a região frontal até o plano transversal que passa na inserção cranial dos músculos cervicais. Afastamos as bordas da incisão, de ambos os lados, até a exposição dos meatos auriculares externos.

Utilizando aparelho de estereotaxia KOPF, modelo 900, fixamos o animal e expusemos o periosteio desde a sutura naso-frontal até a borda caudal do osso parietal. Os limites laterais de exposição atingiram a zona de inserção dos músculos temporais.

Nas experiências com estricnina, realizamos / duas trepanações circulares de 2mm de diâmetro, no terço caudal dos ossos interparietais, ampliadas com goiva até a exposição da dura-máter. Por esses orifícios, inserimos eletrodos pares, de níquel-cromo, com 0,12mm de diâmetro, revestidos de vidro em toda a extensão, exceto no milímetro inferior. Utilizando coordenadas obtidas do atlas de estereotaxia de HURT e col. (1971), atingimos a transição bulbo-pontina, inserindo os eletrodos, verticalmente, na linha média, em um ponto situado a -2,5mm da origem do eixo crânio-caudal, até atingir o ponto de profundidade que corresponde ao meato auricular.

Nas experiências com cardiazol, realizamos duas trepanações circulares de 2mm de diâmetro, uma em cada osso interparietal (terço médio), por onde introduzimos dois eletrodos de níquel-cromo, cujas extremidades, em círculos de 1,0 mm de diâmetro, ficaram levemente apoiadas na dura-máter. Os eletrodos foram fixados ao periosteio com metilmetacrilato de polimerização rápida.

Utilizamos polígrafo BECKMAN, de quatro canais , para o registro da atividade bioelétrica cerebral, realizado com o animal dentro da gaiola de Faraday. A ampliação dos sistemas foi escolhida de acordo com a voltagem de cada derivação, no momento do registro, sendo utilizados filtros para frequências altas quando necessário. Usamos constante de tempo 0,3 e a velocidade do papel foi mantida em 10 ou em 25 mm por segundo. Os fenômenos mais significativos foram registrados em velocidades de 50 ou 100 mm por segundo.

Adaptamos a cânula traqueal à bomba de respiração artificial e administramos, por via intravenosa, 0,3 a 0,4 ml de trietiodeto de galamina (FLAXEDIL^R). A frequência respiratória artificial era ajustada de acordo com a frequência do animal acordado.

A cânula femoral foi conectada à bomba de injeção contínua e, após um ou dois minutos de registro-controle, iniciamos a administração da droga convulsivante até o aparecimento de potenciais característicos, no traçado, que chamaremos de descargas.

A concentração de nitrato de estricnina variou / em função do peso do animal e a de cardiazol, em função do Grupo de animais. Os valores que constam dos Quadros VI e VII foram estabelecidos em experiências preliminares.

(R) Produto da RHODIA - Indústrias Químicas e Têxteis S/A

QUADRO VI - Variação da concentração de nitrato de estriçnina de acordo com o peso do animal.

Peso do animal (g)	mg de estriçnina/ml
inferior a 280	1,0
de 280 a 350	1,5
superior a 350	2,0

QUADRO VII - Variação da concentração de cardiazol de acordo com o grupo estudado.

Grupo	mg de cardiazol/ml
Com Depleção	20,0
Outros	60,0

Consideramos limiar convulsivo à estriçnina e ao cardiazol a quantidade de droga por kg de animal necessária para provocar o aparecimento de descargas típicas no traço - do. Estas, e a atividade bioelétrica normal, acham-se ilus - tradas nas figuras que se seguem.

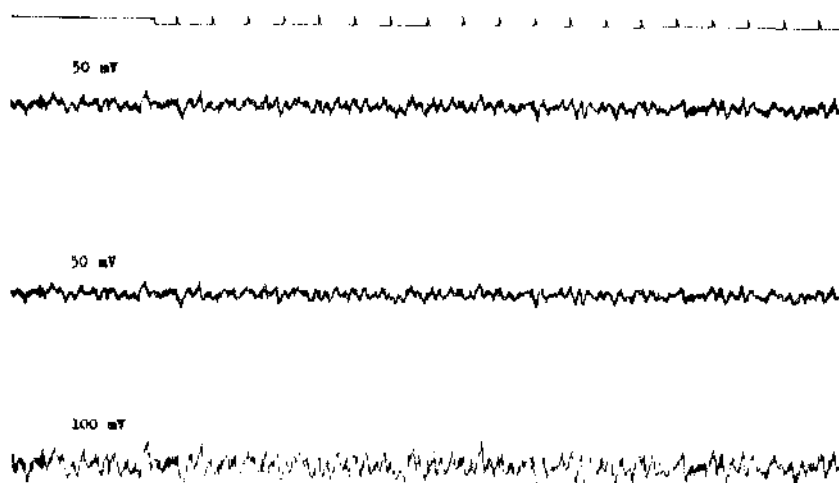


Figura 3 - Atividade bioelétrica cortical. Padrão normal em rato curarizado. Grupo Controle.

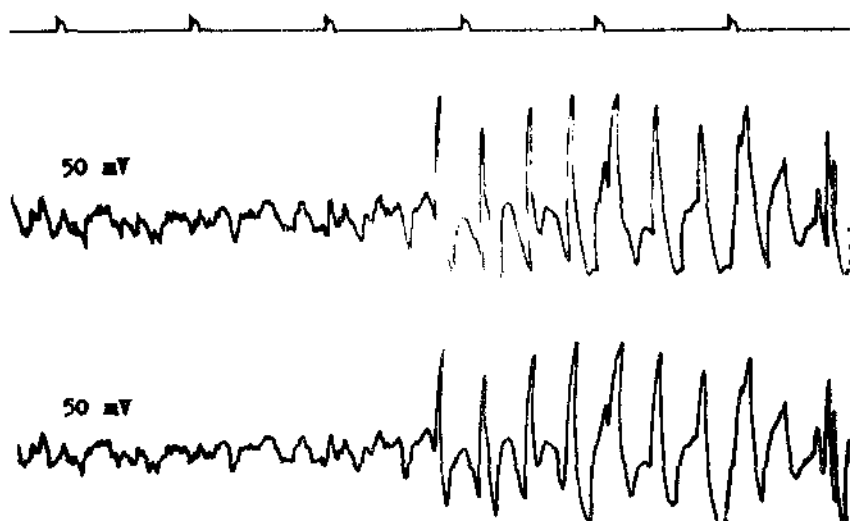


Figura 4 - Atividade bioelétrica cortical. Padrão das descargas induzidas pelo CARDIAZOL. Rato curarizado. Grupo Controle.

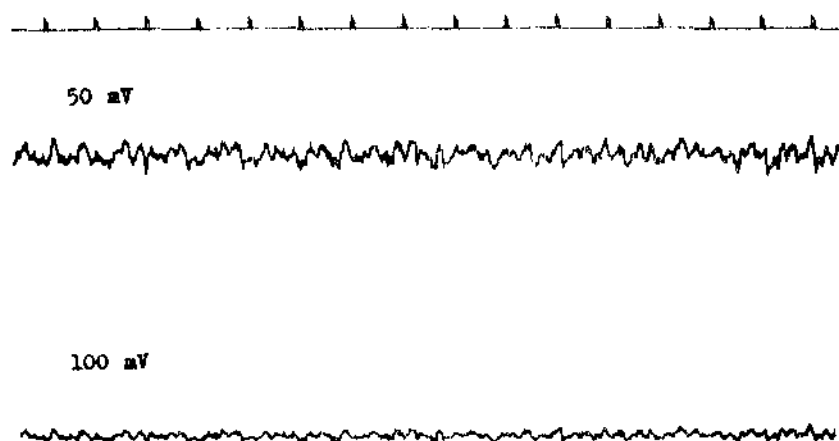


Figura 5 - Atividade bioelétrica do tronco cerebral. Padrão normal em rato curarizado. Grupo Controle.



Figura 6 - Atividade bioelétrica do tronco cerebral. Padrão das descargas induzidas pela ESTRICNINA. Rato curarizado. Grupo Controle.

3.2. Lesão eletrolítica dos núcleos rafeanos

Utilizamos os mesmos procedimentos descritos na determinação do limiar convulsivo, até a exposição do peri-ósteo. Realizamos, então, trepanação circular de 2 mm de diâmetro, na linha média do osso occipital, por onde introduzimos o eletródio ativo de níquel-cromo, revestido com verniz isolante em toda a extensão, exceto no milímetro inferior. A implantação nas áreas a serem lesadas foi feita com eixo de inserção de -30° com a vertical e obedeceu às coordenadas obtidas do atlas de estereotaxia de HURT e col. / (1971), expostas abaixo:

pontos do eixo crânio-caudal, em mm	2,2	1,6	1,1	0,8
pontos laterais, em mm	0,0	0,0	0,0	0,0
pontos de profundidade, em mm*	0,0	4,0	4,0	3,5/2,4
	1,8	1,2	1,8	1,2

* tomados a partir do meato auricular

O eletródio indiferente foi fixado à borda da incisão cutânea. As lesões foram feitas por eletrotermia, com corrente contínua de 4 mA, aplicada durante 10 segundos pelo eletródio ativo ligado ao cátodo de fonte de 18 volt / (DEW, modelo K-33). Em seguida, retiramos o animal do aparelho de estereotaxia e procedemos à sutura e à antisepsia da pele.

3.3. Lesão fictícia de núcleos rafeanos -

Nos animais submetidos a lesão fictícia utilizamos o mesmo procedimento descrito para a lesão eletrolítica exceto a corrente de lesão.

3.4. Preparo e administração da pCPA -

Utilizamos p-clorofenilalanina de procedência americana, da firma K & K Laboratories Inc., lotes 3748-A e 99729.

A droga, em forma de pó, foi suspensa com igual / quantidade de goma arábica, em 5 ml de solução fisiológica de forma semelhante à descrita por PUJOL e col. (1971) . A administração foi por via intraperitoneal em dose única de 300 mg/kg de animal.

3.5. Observação do comportamento -

O comportamento foi avaliado quanto à ocorrência / de estereotípias relativas à postura, marcha, exploração / do ambiente e resposta a estímulo sensorial.

3.6. Análise histológica -

Deixamos os cérebros dos animais do Grupo com Lesão Eletrolítica em formol a 10%, durante 8 dias. Após inclusão em parafina, separamos 9 cérebros por sorteio. Os cortes foram realizados a cada 30 μ e cada 10º corte, com 10 μ , era separado e corado pela hematoxilina-eosina. A

presença de lesão de cavitação foi determinada por exame microscópico. No ponto de lesão máxima, a extensão da lesão foi medida em lupa, com auxílio de ocular micrométrica aferida. Cortes representativos, em cada um dos Subgrupos, foram fotografados.

3.7. Estudo estatístico -

A natureza dos dados sugeriu a aplicação dos seguintes testes estatísticos:

a) análise de variância a um critério, complementada quando necessário pelo teste de Tukey para comparação, em cada Grupo, dos valores médios do limiar convulsivo observados nos tempos estudados (PIMENTEL GOMES, 1963);

b) teste "t" de Student para grupos independentes, quando comparamos os valores médios dos Grupos com Lesão Eletrolítica e Lesão Fictícia, em cada Momento (SNEDECOR & COCHRAN, 1971);

c) teste de CHAUVENET para exclusão dos dados / suspeitos da população de amostras de cada Grupo;

d) análise de regressão entre o limiar convulsivo e os diferentes momentos de depleção. Procuramos ajustar, para o limiar convulsivo, uma função de tempo, testando graficamente e matematicamente as funções de potência e exponencial, e escolhemos aquela que apresentou / maior coeficiente de determinação (CROXTON, 1953).

R E S U L T A D O S

Na apresentação dos resultados, onde os valores do limiar convulsivo serão sempre expressos em mg do convulsivante por kg de animal, empregaremos a seguinte sequência:

1 - limiar convulsivo ao cardiazol e à estricnina , nos diferentes Grupos e Subgrupos, apresentado em Quadros / contendo os valores da média ($\bar{X}$) ,do desvio-padrão (D.P.), do coeficiente de variação (C.V.) e do número de animais (N);

2 - estudo comparativo entre os diferentes Grupos e o Grupo Controle mediante:

2.1. - análise de variância, com os resultados expostos em Quadros onde figuram as fontes de variação (F.V.), os graus de liberdade (G.L.), os quadrados médios (Q.M.) e os valores de F calculado (F_{calc}) e de F crítico ($F_{crít}$);

2.2. - teste de Tukey, para comparação entre médias, exposto em Quadro onde constam, à frente de cada contraste, os valores correspondentes às diferenças entre as

médias e o valor respectivo da Diferença Mínima Significativa (D.M.S._{5%});

2.3. - gráficos correspondentes à análise de regressão nos casos em que a variância foi significativa. Nelas constam os valores do coeficiente de correlação de PEARSON (r), do coeficiente linear (a), do coeficiente angular (b), os valores individuais (representados por pontos) e o valor de "t". A equação da reta foi dada pela fórmula

$$y = a + b \cdot \log (x + 0,5),$$

sendo "y" a variável aleatória e "x" a variável independente. As regressões não significativas são apenas referidas / no texto;

2.4. - teste "t" de Student, apresentado em Quadros, contendo os valores de "t" calculado (t_{calc}) e de "t" crítico (t_{crit}) para as diferentes comparações;

3 - evolução do comportamento dos animais;

4 - estudo histológico;

5 - dados individuais do limiar convulsivo nos diferentes Grupos, Subgrupos e Momentos.

Sempre que rejeitada a hipótese de igualdade, o fato será assinalado por um asterisco.

- QUADRO VIII -

Límiar convulsivo ao cardiazol e à estricnina no Grupo Controle. Valores da média ($\bar{X}$), do desvio-padrão (D.P.), do coeficiente de variação (C.V.) e do número de animais (N).

SUBGRUPO	N	$\bar{X}$	D.P.	C.V.
Cardiazol	9	32,8	5,6	17,1%
Estricnina	9	1,12	0,29	25,9%

- QUADRO IX -

Limiar convulsivo ao cardiazol no Grupo com Depleção, segundo os momentos .
Valores da média ($\bar{X}$), do desvio-padrão (D.P.), do coeficiente de variação (C.V.) e do número de animais (N).

MOMENTOS	N	$\bar{X}$	D.P.	C.V.
24 horas	6	12,5	2,0	16,0%
48 horas	5	18,5	0,3	1,5%
96 horas	8	12,2	4,0	32,8%
192 horas	10	16,6	5,3	31,9%

- QUADRO X -

Análise de variância dos valores do limiar convulsivo ao cardiazol no Grupo Controle e no Grupo com Depleção.

F.V.	G.L.	Q.M.	F _{calc}	F _{crit} _{0,05}
TRATAMENTO	4	599,96	30,88*	2,66
RESÍDUO	33	19,43		
TOTAL	37			

- QUADRO XI -

Teste de Tukey. Comparação entre a média de limiar convulsivo ao cardiazol do Grupo Controle e as médias do Grupo com Depleção, nos diferentes momentos. Valores das diferenças ($\bar{X}_a - \bar{X}_b$) e das Diferenças Mínimas Significativas correspondentes (D.M.S._{5%}).

COMPARAÇÃO			DIFERENÇA	D.M.S. _{5%}
$\bar{X}_a$	x	$\bar{X}_b$	$\bar{X}_a - \bar{X}_b$	
Controle	x	24 h	20,3*	6,7
Controle	x	48 h	14,3*	7,1
Controle	x	96 h	20,6*	6,2
Controle	x	192 h	16,2*	5,8
24 h	x	48 h	6,0	7,7
24 h	x	96 h	0,3	6,9
24 h	x	192 h	4,1	6,6
48 h	x	96 h	6,3	7,3
48 h	x	192 h	1,9	7,0
96 h	x	192 h	4,4	6,0

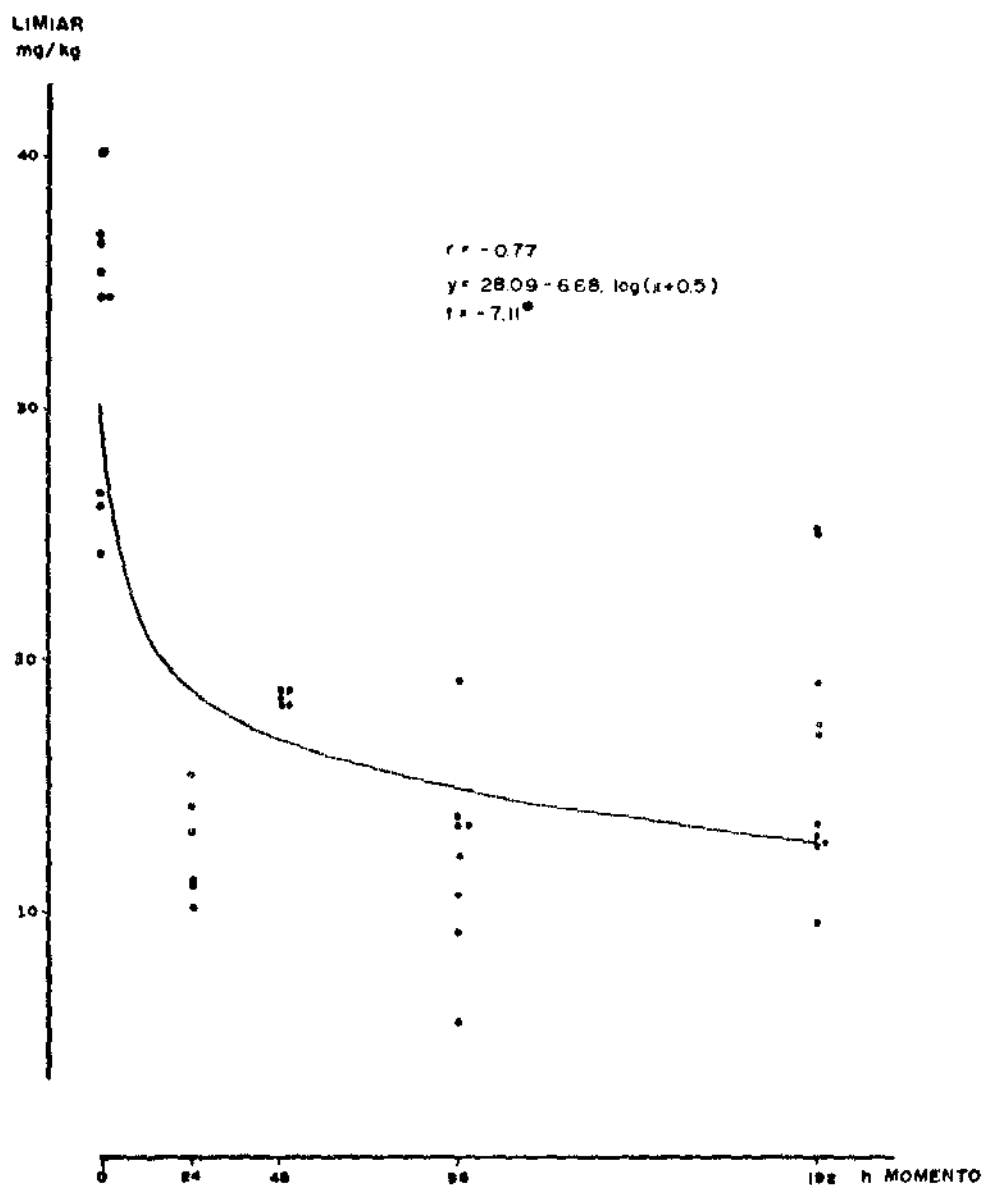


GRÁFICO I - Regressão dos valores do limiar convulsivo ao cardiazol sobre os diferentes tempos de depleção.

- QUADRO XII -

Límiar convulsivo à estricnina no Grupo com Depleção, segundo os momentos .
Valores da média ($\bar{X}$), do desvio-padrão (D.P.), do coeficiente de variação (C.V.) e do número de animais (N).

MOMENTOS	N	$\bar{X}$	D.P.	C.V.
24 horas	8	0,93	0,35	37,68
48 horas	6	0,88	0,08	9,18
96 horas	8	0,52	0,09	17,38
192 horas	6	0,87	0,08	9,28

- QUADRO XIII -

Análise de variância dos valores do limiar convulsivo à estricnina no Grupo Controle e no Grupo com Depleção.

F.V.	G.L.	Q.M.	F _{calc}	F _{crít_{0,05}}
TRATAMENTO	4	0,3952	7,63*	2,67
RESÍDUO	32	0,0517		
TOTAL	36			

- QUADRO XIV -

Teste de Tukey. Comparação entre a média de limiar convulsivo à estricnina do Grupo Controle e as médias do Grupo com Depleção, nos diferentes momentos. Valores das diferenças ($\bar{X}_a - \bar{X}_b$) e das Diferenças Mínimas Significativas correspondentes (D.M.S._{5%}).

COMPARAÇÃO			DIFERENÇA	D.M.S. _{5%}
$\bar{X}_a$		$\bar{X}_b$	$\bar{X}_a - \bar{X}_b$	
Controle	x	24 h	0,19	0,32
Controle	x	48 h	0,24	0,35
Controle	x	96 h	0,60*	0,32
Controle	x	192 h	0,25	0,35
24 h	x	48 h	0,05	0,36
24 h	x	96 h	0,41*	0,36
24 h	x	192 h	0,06	0,33
48 h	x	96 h	0,36*	0,36
48 h	x	192 h	0,01	0,38
96 h	x	192 h	0,35	0,36

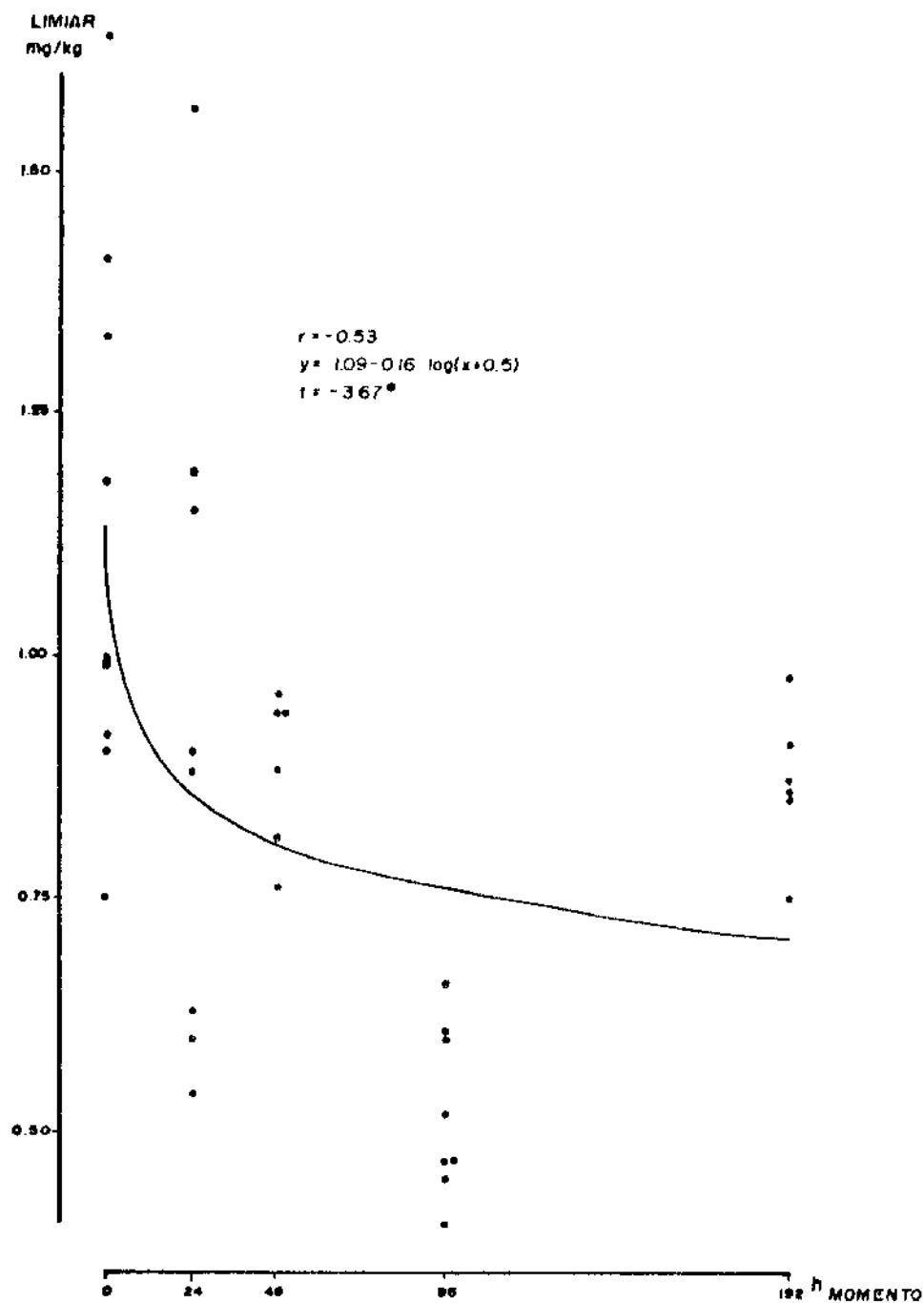


GRÁFICO II - Regressão dos valores do limiar convulsivo à estriçnina sobre os diferentes tempos de depleção.

- QUADRO XV -

Limiar convulsivo ao cardiazol no Grupo com Lesão Fictícia, segundo os momentos. Valores da média ($\bar{X}$), do desvio-padrão (D.P.), do coeficiente de variação (C.V.) e do número de animais (N).

MOMENTOS	N	$\bar{X}$	D.P.	C.V.
39 dia	5	30,6	13,8	45,1%
59 dia	5	35,3	11,6	32,9%
79 dia	12	37,3	11,4	30,6%

- QUADRO XVI -

Análise de variância dos valores do limiar convulsivo ao cardiazol no Grupo Controle e no Grupo com Lesão Fictícia, nos diferentes momentos.

F.V.	G.L.	Q.M.	F_{calc}	$F_{crit}_{0,05}$
TRATAMENTO	3	67,06	0,60	0,071
RESÍDUO	27	111,00		
TOTAL	30			

- QUADRO XVII -

Limiar convulsivo à estricnina no Grupo com Lesão Fictícia, segundo os momentos. Valores da média ($\bar{X}$), do desvio-padrão (D.P.), do coeficiente de variação (C.V.) e do número de animais (N).

MOMENTOS	N	$\bar{X}$	D.P.	C.V.
39 dia	5	0,77	0,24	31,2%
59 dia	4	1,24	0,06	4,8%
79 dia	7	1,08	0,20	18,5%

- QUADRO XVIII -

Análise de variância dos valores do limiar convulsivo à estricnina no Grupo Controle e no Grupo com Lesão Fictícia, nos diferentes momentos.

F.V.	G.L.	Q.M.	F _{calc}	F _{crit 0,05}
TRATAMENTO	3	0,1964	3,60*	3,87
RESÍDUO	21	0,0545		
TOTAL	24			

- QUADRO XIX -

Teste de Tukey. Comparação entre a média de limiar convulsivo à estricnina do Grupo Controle e as médias do Grupo com lesão Fictícia, nos diferentes momentos. Valores das diferenças ($\bar{X}_A - \bar{X}_B$) e das Diferenças Mínimas Significativas correspondentes (D.M.S._{5%}).

$\bar{X}_A$	COMPARAÇÃO		DIFERENÇA $\bar{X}_A - \bar{X}_B$	D.M.S. _{5%}
Controle	x	39 dia	0,35	0,36
Controle	x	59 dia	0,12	0,39
Controle	x	79 dia	0,04	0,33
39 dia	x	59 dia	0,47*	0,44
39 dia	x	79 dia	0,31	0,38
59 dia	x	79 dia	0,16	0,41

- QUADRO XX -

Límiar convulsivo ao cardiazol no Grupo com Lesão Eletrolítica, segundo os momentos. Valores da média ($\bar{X}$), do desvio-padrão (D.P.), do coeficiente de variação (C.V.) e do número de animais (N).

MOMENTOS	N	$\bar{X}$	D.P.	C.V.
39 dia	8	11,1	4,4	39,6%
59 dia	7	22,1	7,0	31,7%
79 dia	4	28,3	1,7	6,0%

- QUADRO XXI -

Análise de variância dos valores do limiar convulsivo ao cardiazol no Grupo Controle e no Grupo com Lesão Eletrolítica, nos diferentes momentos.

F.V.	G.L.	Q.M.	F _{calc}	F _{crit_{0,05}}
TRATAMENTO	3	625,60	22,82*	3,03
RESÍDUO	23	27,41		
TOTAL	26			

- QUADRO XXII -

Teste de Tukey. Comparação entre a média do limiar convulsivo ao cardiazol no Grupo Controle e as médias do Grupo com Lesão Eletrolítica, nos diferentes momentos. Valores das diferenças ($\bar{X}_a - \bar{X}_b$) e das Diferenças Mínimas Significativas correspondentes (D.M.S.₅₈).

COMPARAÇÃO			DIFERENÇA	D.M.S. ₅₈
$\bar{X}_a$		$\bar{X}_b$	$\bar{X}_a - \bar{X}_b$	
Controle	x	3º dia	21,7*	7,2
Controle	x	5º dia	10,7*	7,5
Controle	x	7º dia	4,5	8,9
3º dia	x	5º dia	- 11,0*	7,5
3º dia	x	7º dia	- 17,2*	8,9
5º dia	x	7º dia	- 6,2	9,1

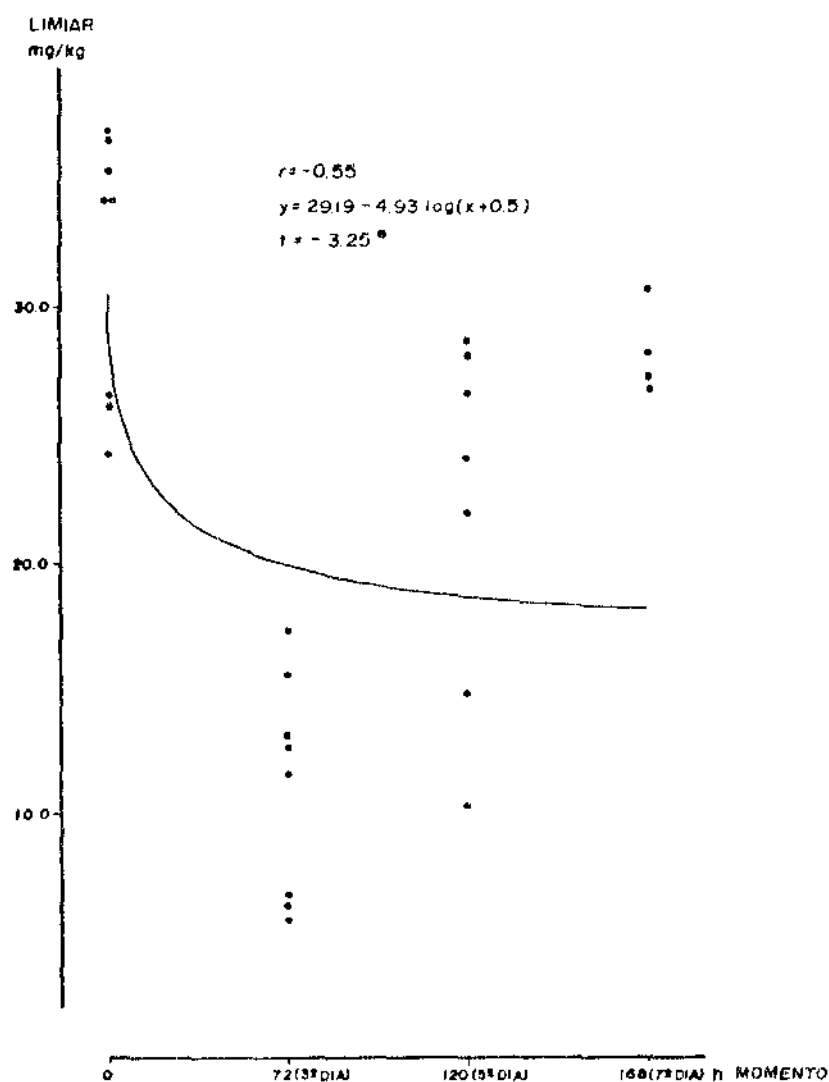


GRÁFICO III - Regressão dos valores do limiar convulsivo ao cardiazol sobre os diferentes tempos após lesão eletrolítica.

- QUADRO XXIII -

Limiar convulsivo à estricnina no Grupo com Lesão Eletrolítica, segundo os momentos. Valores da média ($\bar{X}$), do desvio-padrão (D.P.), do coeficiente de variação (C.V.) e do número de animais (N).

MOMENTOS	N	$\bar{X}$	D.P.	C.V.
3º dia	7	1,53	0,16	10,5%
5º dia	6	1,43	0,39	27,3%
7º dia	8	0,91	0,23	25,3%

- QUADRO XXIV -

Análise de variância dos valores do limiar convulsivo à estricnina no Grupo Controle e no Grupo com Lesão Eletrolítica, nos diferentes momentos.

F.V.	G.L.	Q.M.	F _{calc}	F _{crít} _{0,05}
TRATAMENTO	3	0,593	7,90*	2,98
RESÍDUO	26	0,075		
TOTAL	29			

- QUADRO XXV -

Teste de Tukey. Comparação entre a média do limiar convulsivo à estricnina do Grupo Controle e as médias do Grupo com Lesão Eletrolítica nos diferentes momentos. Valores das diferenças ($\bar{X}_a - \bar{X}_b$) e das Diferenças Mínimas Significativas correspondentes (D.M.S._{5%}).

COMPARAÇÃO			DIFERENÇA	D.M.S. _{5%}
$\bar{X}_a$		$\bar{X}_b$	$\bar{X}_a - \bar{X}_b$	
Controle	x	3º dia	- 0,41*	0,38
Controle	x	5º dia	- 0,31	0,40
Controle	x	7º dia	0,21	0,37
3º dia	x	5º dia	0,10	0,42
3º dia	x	7º dia	0,62*	0,42
5º dia	x	7º dia	0,52*	0,41

- QUADRO XXVI -

Teste "t" de Student. Comparação entre os valores das médias de limiar convulsivo ao cardiazol dos Grupos com Lesão Eletrolítica e com Lesão Fictícia segundo os momentos.

MOMENTO	COMPARAÇÃO $\bar{X} \pm D.P. (N)$		t_{calc}	$t_{crit}_{0,05}$
	L.Eletrolítica	L.Fictícia		
39 dia	11,1 (8) $\pm 4,4$	30,6 (5) $\pm 13,8$	- 3,78*	2,20
59 dia	22,1 (7) $\pm 7,0$	35,3 (5) $\pm 11,6$	- 2,47	2,23
79 dia	28,3 (4) $\pm 1,7$	37,3 (12) $\pm 11,4$	- 1,54	2,14

- QUADRO XXVII -

Teste "t" de Student. Comparação entre os valores das médias de limiar convulsivo à estricnina dos Grupos com Lesão Eletrolítica e com Lesão Fictícia segundo os momentos.

MOMENTO	COMPARAÇÃO $\bar{X} \pm D.P. (N)$		t_{calc}	t_{crit}
	L.Eletrolítica	L.Fictícia		
39 dia	1,53 (7) $\pm 0,16$	0,77 (5) $\pm 0,24$	6,62*	2,20
59 dia	1,43 (6) $\pm 0,39$	1,24 (4) $\pm 0,06$	0,95	2,26
79 dia	0,91 (8) $\pm 0,23$	1,08 (7) $\pm 0,20$	- 1,52	2,14

- QUADRO XXVIII -

Valores individuais de limiar convulsivo. Sub-
grupos cardíacos dos Grupos Controle, Depleção,
Lesão Eletrolítica e Lesão Fictícia.

GRUPO CONTROLE	GRUPO COM DEPLEÇÃO				GRUPOS COM LESÃO					
	24h	48h	96h	192h	Momento 3		Momento 5		Momento 7	
					LE*	LF**	LE	LF	LE	LF
26,2	11,2	18,8	13,4	25,0	15,5	11,2	24,1	21,1	26,9	47,5
36,5	15,3	18,5	13,5	9,6	6,7	21,6	28,1	51,0	30,7	22,5
34,3	10,1	18,3	9,2	13,4	13,1	36,5	22,0	38,7	27,4	50,0
34,3	13,1	18,8	5,6	17,8	11,5	39,7	26,7	26,9	28,3	38,1
26,6	11,0	18,2	10,6	19,1	12,5	44,1	10,3	38,8		30,1
35,4	14,1		19,2	17,0	6,2		14,8			53,3
36,9			12,1	25,3	17,3		28,6			27,0
24,3			13,6	12,6	5,6					51,0
40,5				13,0						37,9
				12,9						19,6
										39,7
										31,3

* Lesão Eletrolítica

** Lesão Fictícia

- QUADRO XXIX -

Valores individuais de limiar convulsivo. Sub-
grupos estricnina dos Grupos Controle, Depleção,
Lesão Eletrolítica e Lesão Fictícia.

GRUPO CONTROLE	GRUPO COM DEPLEÇÃO				GRUPOS COM LESÃO					
	24h	48h	96h	192h	Momento 3		Momento 5		Momento 7	
					LE*	LF**	LE	LF	LE	LF
1,00	0,54	0,94	0,45	0,75	1,36	0,82	1,98	1,19	0,85	0,83
0,92	0,63	0,96	0,52	0,98	1,60	0,53	1,05	1,21	0,88	1,29
0,99	1,15	0,82	0,47	0,86	1,70	0,56	1,34	1,24	1,30	1,21
1,41	0,60	0,94	0,40	0,85	1,71	1,12	1,00	1,33	0,65	1,26
0,90	0,88	0,88	0,66	0,87	1,46	0,83	1,40		1,07	1,21
1,33	0,90	0,76	0,60	0,91	1,55		1,79		1,08	0,85
1,18	1,19		0,47		1,30				0,79	0,94
0,75	1,57		0,61						0,63	
1,64										

*Lesão Eletrolítica

**Lesão Fictícia

Evolução comportamental dos animais -

Após aplicação da corrente de lesão os animais permaneciam comatosos por duas horas, em média. Recuperavam-se lentamente e então adotavam postura caracterizada por acentuada flexão da cabeça, mantida sempre contra as grades da gaiola e o chão. Então, de modo súbito, desenvolviam hipercinesia ambulatoria que, quando observada dentro da gaiola, caracterizava-se por corridas em círculos.

Os animais saltavam bruscamente, lançando-se contra as grades da gaiola e vocalizavam sempre que estimulados com bastão ou sopro.

Frente a obstáculos não observamos comportamento exploratório. Transpostos ou não, os animais voltavam à postura flexa, permanecendo imóveis por alguns minutos, quando novamente apresentavam-se hipercinéticos e reiniciavam as corridas.

Estas alterações persistiram por dois dias após a lesão e não observamos variação com o período do dia. No 3º dia, a maior parte dos animais apresentou priapismo e cessou a hipercinesia ambulatoria. No 5º dia após a lesão, os animais apresentaram hipertonia, permanecendo imóveis em catalepsia (Figura 7). No 7º dia, essas alterações não mais eram observadas e o comportamento era normal.

Os animais submetidos a lesão fictícia e os do Grupo com Depleção não apresentaram estereotipias comportamentais.



Figura 7 - Aspecto da hipertonia apresentada pelos animais no 59 dia após a lesão eletrolítica de núcleos rafeanos. Rato 3, Momento 59 dia, Grupo com Lesão Eletrolítica.

Estudo histológico -

Apresentamos ilustrações correspondentes ao aspecto histológico das lesões eletrolíticas (Figuras 9 a 17) cujas dimensões médias foram $55,1 \mu \pm 18,9$ no maior diâmetro e $38,3 \mu \pm 11,7$ no menor diâmetro.

Para efeito de comparação, apresentamos, esquematicamente, na Figura 8, a localização dos núcleos dorsal e mediano da rafe e de estruturas vizinhas, em secção frontal do cérebro de rato.

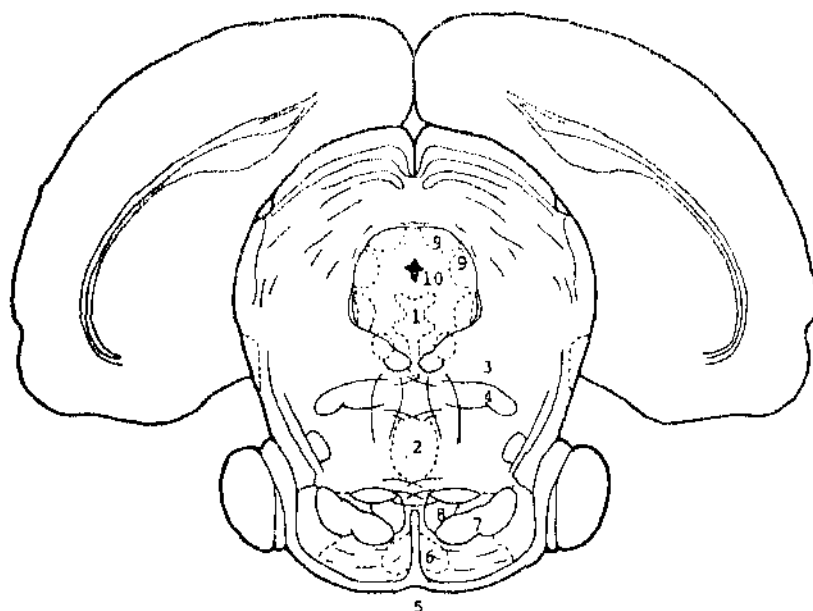


Figura 8 - Localização dos núcleos dorsal e mediano da rafe e de estruturas vizinhas em secção frontal / do cérebro de rato (HURT e col., 1971): 1- núcleo dorsal da rafe; 2- núcleo ventral da rafe; 3- formação reticular; 4- pedúnculo cerebelar superior; 5- rafe; 6- núcleo da ponte; 7- fascículo longitudinal; 8- lemnisco medial; 9- substância cinzenta central e 10- aqueduto de Silvio.



Figura 9 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 39 dia. Rato 6. Lâmina nº 26.

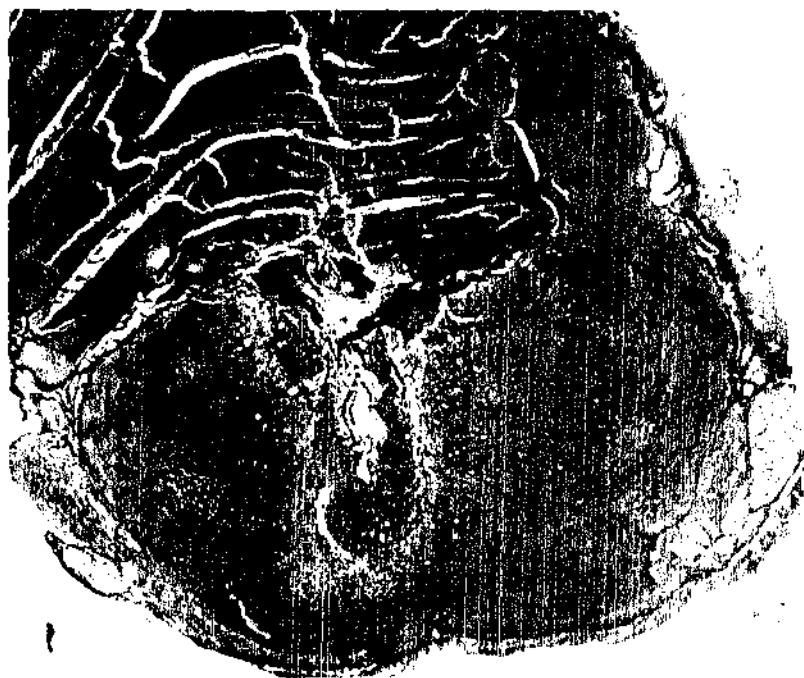


Figura 10 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 39 dia. Rato 6. Lâmina nº 31.

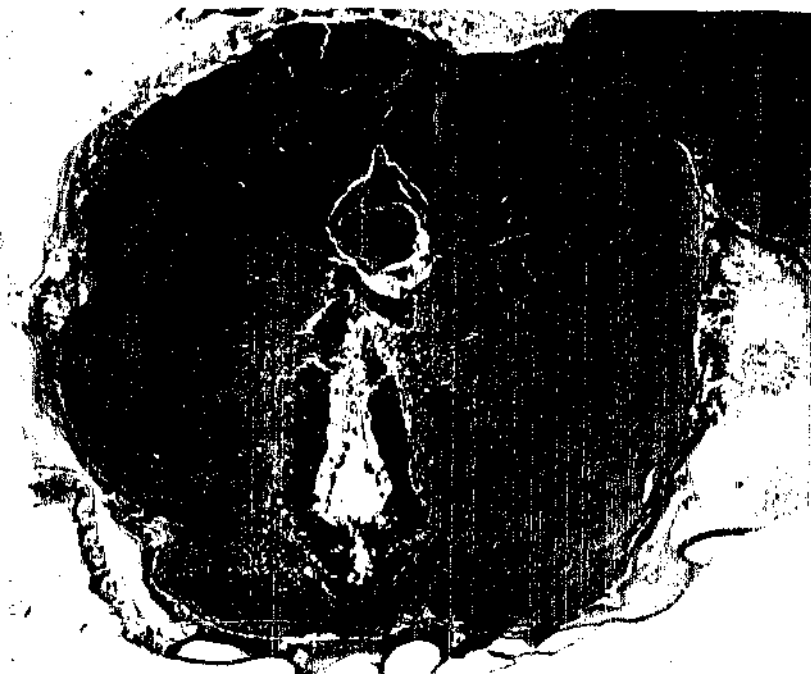


Figura 11 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 39 dia. Rato 6. Lâmina nº 44.



Figura 12 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 5º dia. Rato 3. Lâmina nº 15.



Figura 13 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 5º dia. Rato 3. Lâmina nº 25.



Figura 14 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 59 dia. Rato 3. Lâmina nº 40.

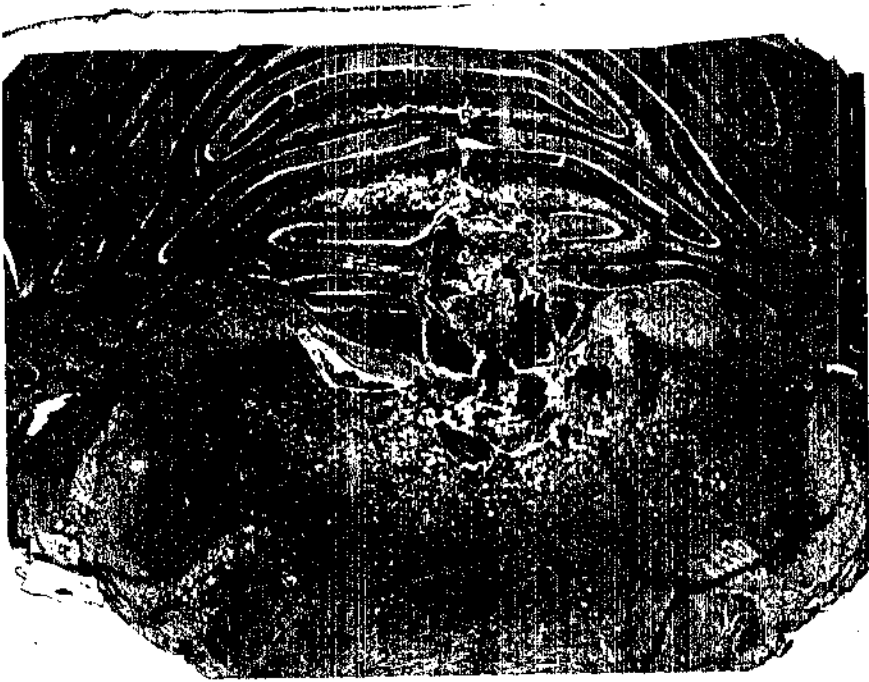


Figura 15 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 7º dia. Rato 5. Lâmina nº 19.



Figura 16 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 7º dia. Rato 5. Lâmina nº 24.



Figura 17 - Aspecto histológico da lesão. Grupo com Lesão Eletrolítica. Momento 7º dia. Rato 5. Lâmina nº 36.

D I S C U S S Ã O

1. DO MATERIAL e MÉTODO -

1.1. Animal de experimentação -

1.1.1. Espécie

Escolhemos o rato em virtude da facilidade na obtenção de animais provenientes de linhagem homogênea, pelo seu custo relativamente baixo , pela sua fácil manipulação e ainda, pela experiência anterior da literatura no seu emprego neste tipo de experimentação.

1.1.2. Idade

Utilizamos ratos com mais de 8 semanas de vida, evitando introduzir no trabalho outras variáveis além daquelas cujo controle é previsível. Assim, a maturação de neuromecanismos inibidores e estimuladores da excitabilidade cerebral se inicia ao nascimento, completando -se alguns em torno da terceira semana de vida e outros , mais tardiamente (CASRILEVITZ e col., 1971). Além deste

fato, demonstrou-se a existência de variação do conteúdo cerebral diurno de 5-HT em ratos jovens, no período de vida compreendido entre o 8º e o 66º dias (ASANO,1971).

1.2. Escolha dos Momentos -

1.2.1. No Grupo com Depleção -

A partir do conhecimento de que após a administração de dose única de pCPA a concentração de 5-HT diminui do 1º ao 8º dia (MILLER e col., 1970), escolhemos os Momentos 24, 48, 96 e 192 horas por estarem compreendidos nesse período.

1.2.2. No Grupo com Lesão Eletrolítica -

Na ausência de dados de literatura, diretos ou indiretos, que nos fornecessem elementos para a definição dos tempos de determinação do limiar convulsivo após a lesão, optamos, mais ou menos arbitrariamente , pelo 3º, 5º e 7º dias. Assim, julgamos que, antes do 3º dia, edema do bulbo e de regiões vizinhas poderia alterar os valores obtidos. Além disso, em experiências preliminares, a evolução do comportamento estereotipado apresentado pelos animais, em diferentes fases após a lesão, tiveram influência na definição dos Momentos. Esta escolha ficou justificada "a posteriori" diante dos resultados obtidos e quando tomamos conhecimento de que , após a lesão dos núcleos da rafe, os níveis cerebrais de 5-HT permanecem inalterados nos dois primeiros dias, diminuindo acentuadamente a partir do 3º dia (KUCHAR e col.

1974).

1.2.3. No Grupo com Lesão Fictícia -

Como este Grupo foi constituído como contro_{le} do procedimento utilizado para a lesão eletrolítica, os tempos escolhidos foram os mesmos.

1.3. Avaliação do limiar convulsivo -

De uma maneira geral os métodos de avaliação do li_{mi}ar convulsivo baseiam-se na medida do estímulo (intensi_{da}de de corrente, intensidade e frequência do som, dose / convulsivante 50%) e na medida da resposta (observação / clínica do padrão das convulsões ou registro das descargas bioelétricas).

Nossa experiência com observação desarmada e com / registro dos potenciais convulsivos mostrou ser melhor o segundo método.

Em experiências preliminares, utilizamos animais / não paralizados, mas a interferência, no registro, de po_tenciais musculares determinou o emprego do Flaxedil e, por_{ta}nto, da respiração artificial.

Optamos pelo sistema de injeção contínua por ser mais preciso e também para evitar a interferência, no re_gistro, de potenciais musculares que ocorrem quando a inje_ção é manual e descontínua.

1.4. Lesão eletrolítica -

A lesão eletrolítica de determinadas áreas do SNC, além de frequentemente utilizada para o estudo de funções cerebrais, é técnica que vem sendo empregada na Disciplina de Neurofisiologia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu (HOSHINO, 1972 e MENEZES, 1973). No presente trabalho esta técnica também se mostrou adequada porque destruiu as áreas previamente escolhidas como foi demonstrado pelo estudo histológico.

1.5. Escolha da p-clorofenilalanina -

Escolhemos a pCPA porque é a droga mais utilizada em trabalhos neste campo e, dos inibidores da triptofano-hidroxilase, é o que oferece maior possibilidade de ação seletiva sobre o conteúdo cerebral de 5-HT. Os inibidores da triptofano-hidroxilase podem ser agrupados em:

- 1 - catecóis - que competem com o co-fator pteridínico;
- 2 - quelantes - que retiram, provavelmente, íons metálicos da reação enzimica;
- 3 - quinonas e compostos similares - que atuam / por interferência não específica;
- 4 - aminoácidos análogos - representados pelo 6 - halotriptofano, pela p-cloroanfetamina e pela p-clorofenilalanina (Mc GEER, 1973).

Os catecóis e os quelantes, além de não específicos, alteram discretamente o conteúdo cerebral de 5-HT e as quinonas atuam sobre outros sistemas enzimicos oxidativos (Mc GEER, 1973). Os aminoácidos análogos atuam mais seletivamente e a inibição da síntese de 5-HT pela pCPA / está bem estabelecida e parece decorrer de sua incorporação pela proteína enzimica (KOE & WEISSMAN, 1966a; JEQUIER e col., 1967; GAL e col., 1970 e GAL, 1973).

1.6. Alteração comportamental -

Não era proposição inicial deste trabalho a observação do comportamento dos animais. Entretanto, a ocorrência muito frequente de estereotipias nos animais submetidos a lesão eletrolítica dos núcleos da rafe nos levou à observação sistemática do comportamento em todos os Grupos, objetivando constatar ou não a presença dessas estereotipias. Portanto, apenas sua presença foi considerada como alteração do comportamento.

1.7. Escolha dos agentes convulsivantes -

A atuação em neuromecanismos excitatórios e inibitórios da excitabilidade cerebral é parte dos objetivos deste trabalho. Empregamos o cardiazol pois sua atividade convulsivante depende da estimulação de neuromecanismos / excitatórios localizados em diferentes níveis do SNC e a convulsão tônica induzida por essa droga representa a máxima manifestação da estimulação dos sistemas excitadores localizados, em sua maior parte, no tronco cerebral (LEWIN & ESPLIN, 1961; GASTAUT & FISCHER-WILLIAMS, 1968; ES,

PLIN & ZABLOCKA-ESPLIN, 1969; JINNAI e col., 1969 e CASRI-
LEVITZ, ENGELHARDT & ESBÉRARD, 1971).

A convulsão por estricnina decorre do processo de
inibição exercido pela droga sobre estruturas inibidoras,
o que resulta em liberação dos mecanismos excitatórios (EN
GELHARDT & ESBÉRARD, 1968 e GASTAUT & FISCHER-WILLIAMS ,
1968).

2. DOS RESULTADOS -

2.1. GRUPO COM DEPLEÇÃO -

O limiar convulsivo ao cardiazol, nos animais tratados com pCPA, diminuiu significativamente em relação ao controle, em todos os momentos estudados (24, 48,96 e 192 horas). A regressão dos valores do limiar convulsivo ao cardiazol sobre os diferentes tempos após tratamento / com pCPA foi significativa, mostrando dependência dos valores do limiar em relação a esses tempos.

Embora na literatura não existam trabalhos em que se empregue o mesmo método de determinação do limiar convulsivo utilizado neste estudo, e nos quais os momentos de depleção também sejam os mesmos, alguns autores observaram alteração do limiar convulsivo ao cardiazol 24 ou 48 horas após a administração de pCPA. De La TORRE e col.(1970) verificaram que, 24 horas após a administração de 316 mg/kg (pCPA), ratos ficaram desprotegidos ao cardiazol, fato aferido pela intensificação do padrão clínico das convulsões. ALEXANDER & KOPELOFF (1970) também observaram comportamento semelhante em ratos 48 horas após a administração de pCPA (300mg/kg), empregando o mesmo convulsivante e o mesmo método de avaliação. Em relação a outros tipos de convulsão experimental, como por exemplo a induzida por ETC, a pCPA também provoca diminuição do limiar convulsivo (CHEN e col.,1968 e KOE & WEISSMAN, 1968). Em camundongos, entretanto, foi descrita

proteção à convulsão audiogênica após tratamento com a droga (ALEXANDER e col., 1971).

Nossos resultados mostram alteração significativa do limiar convulsivo ao cardiazol até 192 horas após a administração da pCPA e, na literatura, não encontramos referências sobre limiar convulsivo em tempos mais precoces ou mais tardios que os referidos.

A observação do Quadro XII mostra que as médias dos valores do limiar convulsivo à estricnina, nos animais tratados com pCPA, foram menores do que a média observada no Grupo Controle, se bem que diferença significativa somente tenha sido verificada às 96 horas. A regressão dos valores do limiar convulsivo à estricnina sobre os diferentes tempos após tratamento com pCPA mostra dependência entre as duas variáveis (Gráficos II).

Apesar do uso consagrado da estricnina em Farmacologia como agente convulsivante, não encontramos, na literatura, referências sobre seu emprego em estudos de variação da sensibilidade às convulsões induzidas pela pCPA.

Desde o trabalho pioneiro de KOE & WEISSMAN / (1966b), muitas pesquisas têm sido realizadas utilizando a pCPA como inibidora seletiva da 5-HT, e muitas conclusões têm derivado dessa suposta seletividade. A alteração do limiar convulsivo após sua administração tem sido atribuída, portanto, ao efeito que a droga exerce diminuindo o conteúdo cerebral de 5-HT (KOE & WEISSMAN, 1966b; CHEN e col., 1968 e ALEXANDER & KOPELOFF, 1970). No entanto, a pCPA também produz depleção temporária de dopamina e de

nor-epinefrina (Mc GEER e col., 1968; WELCH & WELCH, 1968 e MILLER e col., 1970). Há evidências de que os níveis cerebrais de NE exercem papel atenuador nas convulsões, pois diversos tratamentos que interferem na síntese, estoque e liberação dessa amina no cérebro, levando à sua depleção, intensificam as convulsões audiogênicas (JOBE e col., 1973). Estes autores demonstraram, ainda, que existe relação entre essa intensificação e um determinado nível crítico de depleção de NE. Contudo, não observaram esse comportamento / em relação à dopamina, e estes fatos sugeriram aos autores que, além da 5-HT, a NE exerce papel atenuador na sensibilidade às convulsões.

A proposição de que a NE e a 5-HT exercem papel importante nos mecanismos das convulsões está de acordo com observações recentes de que os sistemas catecolaminérgico e triptaminérgico atuam reciprocamente no cérebro (KOSTOWISKY & GIACALONE, 1969; GOODWIN e col., 1971; LORENS e col., 1971; KOSTOWISKY e col. 1972 e JOUVET, 1973). Essas observações são as seguintes:

1 - em relação ao sono há evidências de que, em condições normais, os neurônios triptaminérgicos exercem ação inibitória, direta ou indireta, sobre os neurônios catecolaminérgicos (JOUVET, 1973);

2 - a atividade motora em ratos se acentua com níveis cerebrais elevados de catecolaminas. Quando, simultaneamente a essa elevação, há diminuição discreta da concentração cerebral de 5-HT, por tratamento com reserpina, ocorre intensificação da atividade motora, aumento da agressividade e da sexualidade; no entanto, se a reserpina é substituída

pela pCPA, que produz diminuição mais acentuada de 5-HT, a penas a agressividade e a sexualidade se acentuam. Segundo os autores, a alteração comportamental varia em função da depleção menor ou maior de 5-HT e a dissociação entre níveis de 5-HT e de catecolaminas deve ser importante nessas alterações do comportamento (BENKERT e col., 1973);

3 - a 5-HT e a dopamina (DA) agem reciprocamente / dentro do corpo estriado, região que recebe fibras dopaminérgicas e triptaminérgicas provenientes do tronco cerebral (KOSTOWISKY e col., 1972). O aumento farmacológico dos níveis de DA dentro do corpo estriado é acompanhado de diminuição do nível de 5-HT nesta área (HASSLER e col., 1966 e PARIZEK e col., 1971);

4 - a DA e a L-dopa alteram o metabolismo e o estoque de 5-HT no cérebro, diminuindo seu "turnover" (GOODWIN e col., 1971; NG e col., 1972 e PARIZEK e col., 1971);

5 - quando se bloqueia receptores dopaminérgicos pela clorpromazina e pelo haloperidol observa-se aumento de síntese de 5-HT (GEY & PLETSCHER, 1961). A clorpromazina também diminui a liberação de 5-HT em cérebro de ratos submetidos a estimulação elétrica dos núcleos da rafe (KOSTOWISKY & GIACALONE, 1969).

Portanto, tendo em vista essas observações, não podemos afastar a hipótese de que a diminuição do limiar convulsivo observada neste trabalho se relacione não só com alterações de 5-HT mas também de outras aminas, entre as quais a NE talvez tenha papel de destaque.

Já assinalamos que não existem na literatura trabalhos sobre comportamento evolutivo do limiar convulsivo à estricnina e ao cardiazol, após tratamento com pCPA. Nossos resultados mostraram que a variação desse limiar pode ser representada por uma função hiperbólica do tempo, cuja equação, para cada um dos agentes convulsivantes, é a seguinte:

$$\text{CARDIAZOL-} \quad y = 28,09 - 6,68 \cdot \log (x + 0,5)$$

$$\text{ESTRICNINA -} \quad y = 1,09 - 0,16 \cdot \log (x + 0,5)$$

em que "y" representa o valor do limiar convulsivo e "x" o tempo decorrido desde a administração da pCPA.

A observação das médias de limiar convulsivo ao cardiazol após tratamento com pCPA, nos diversos momentos, e a inspeção do Gráfico I mostram que parece haver tendência à elevação desse limiar no momento 192 horas. Embora esse valor seja diferente do valor do controle, essa tendência pode significar restauração do conteúdo cerebral de 5-HT e/ou de outras aminas envolvidas no processo ou, simplesmente, diminuição da atividade da pCPA. Talvez constitua evidência desse comportamento o fato de que a análise de regressão sobre o tempo, realizada sem os valores de 192 horas, revelou-se mais significativa (Gráfico IV). Por outro lado, MILLER e col. (1970), dosando 5-HT cerebral em diferentes dias após o tratamento com pCPA, também encontraram, às 192 horas, valores que já mostravam tendência à normalização, embora ainda fossem significativamente diferentes dos de controle. Este fato não é evidente quando se consideram os va-

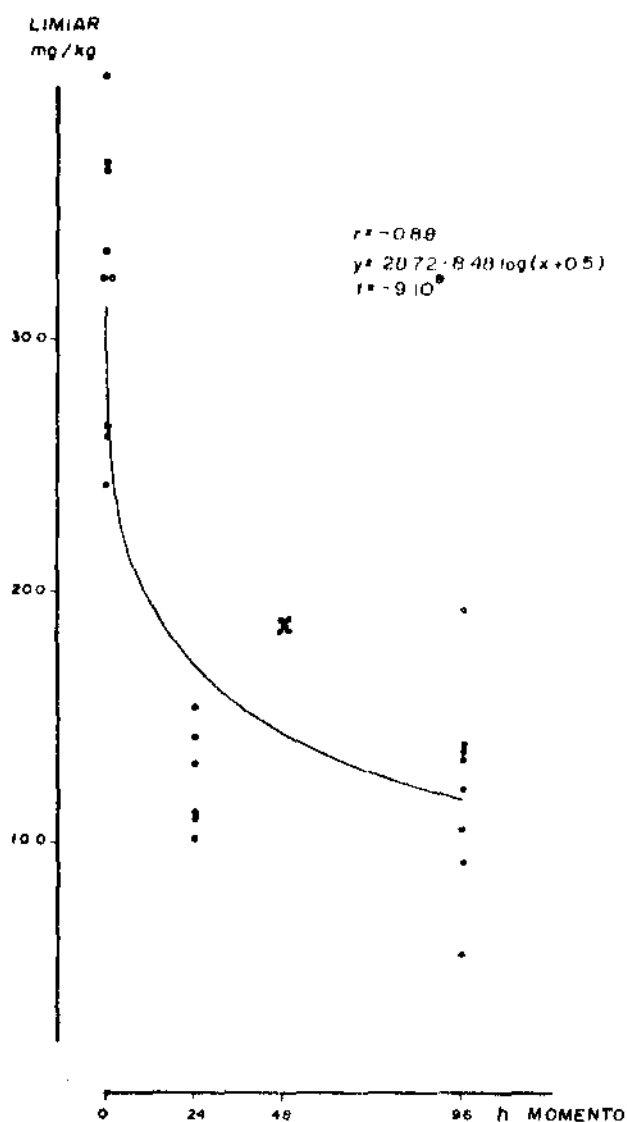
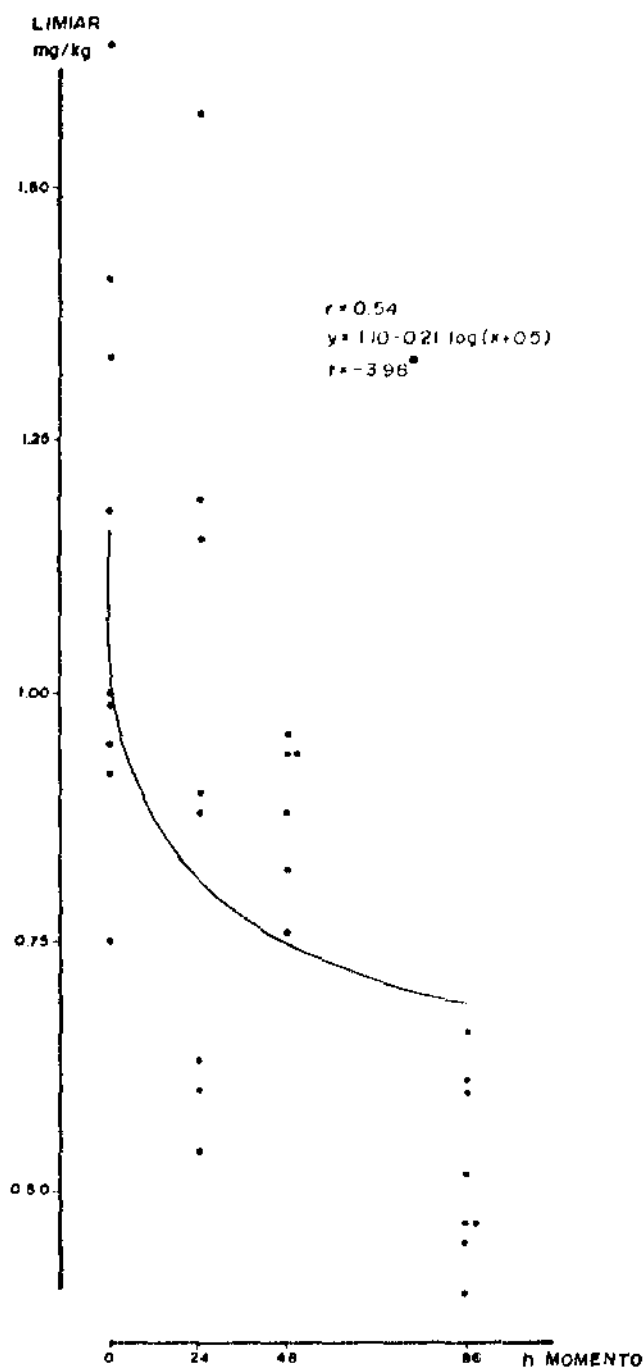


GRÁFICO IV - Regressão dos valores do limiar convulsivo ao cardiazol sobre os diferentes tempos após tratamento com pCPA, excluído o momento 192 horas.



lores do limiar convulsivo à estricnina (Gráfico V).

A observação dos Gráficos I e II também demonstra que há diferenças entre o comportamento evolutivo do limiar convulsivo na dependência do agente convulsivante empregado.

A curva temporal do limiar convulsivo ao cardiazol assemelha-se graficamente à curva temporal de diminuição de 5-HT após tratamento com pCPA, obtida com os dados de MILLER e col. (1970). Esta semelhança, que pode ser ob-

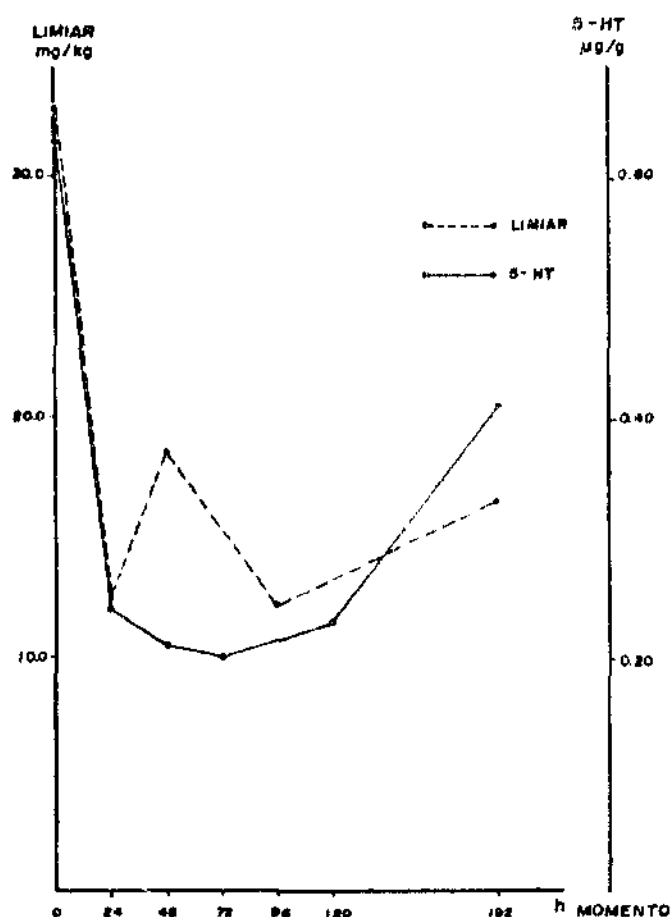


GRÁFICO VI - Relação entre a evolução temporal do limiar convulsivo ao cardiazol nos animais do Grupo com Depleção e os valores da concentração de 5-HT cerebral observados por MILLER e col. (1970) em ratos igualmente tratados pela pCPA.

servada no Gráfico VI (ao lado), não é suficiente, entretanto, para se afirmar que a alteração do limiar convulsivo ao cardiazol se deva exclusivamente à depleção de 5-HT provocada pela pCPA. Entre outras razões, que já apontamos anteriormente, a própria falta de identidade de comportamento entre a resposta ao cardiazol e à estricnina já é suficiente para sugerir que mecanismos mais complexos estão envolvidos, como discutiremos posteriormente.

2.2. GRUPO COM LESÃO -

2.2.1. A lesão -

Lesões extensas do tronco cerebral, envolvem do tanto o núcleo mediano quanto o dorsal da rafe, reduzem em cerca de 80% o conteúdo de 5-HT cerebral (LORENS e col. 1971; COSCINA e col., 1972; JOUVET, 1972; KUHAR e col. 1972a; KUHAR e col., 1972b; BUXBAUM e col., 1973; GRANT e col. 1973 e MARSDEN & GULDBERG, 1973), enquanto lesões seletivas o fazem em menor intensidade (KOSTOWISKY e col., 1968; LORENS, 1973; LORENS & GULDBERG, 1974 e LORENS & YUNGER, 1974). Efetuamos as lesões em nossos animais com o objetivo de destruir eletroliticamente os núcleos dorsal e mediano da rafe. O exame histológico do cérebro dos animais mostrou extensão de área lesada compatível com destruição de ambos os núcleos (Figuras 9, 10 e 11). Assim, passamos a admitir em nossos animais depleção de 80% do conteúdo cerebral de 5-HT.

Embora objetivássemos destruir apenas os núcleos dorsal e mediano da rafe, as lesões efetuadas estenderam-se tanto no sentido crânio-caudal, quanto lateral. Portanto, outras estruturas e outras vias aminérgicas foram, provavelmente, comprometidas pela lesão, apesar de KUHAR e col. (1974) referirem que este tratamento parece ser razoavelmente seletivo para os neurônios triptaminérgicos uma vez que não costuma se acompanhar de redução dos níveis de acetilcolina, da atividade da tirosina-hidroxilase ou do aparecimento de fluorescência nos terminais catecolaminérgicos do restante do cérebro.

O comprometimento pela lesão de outras estruturas, além dos núcleos da rafe, também é observado na literatura (LORENS e col., 1971; KUHAR e col., 1972a e LORENS & GULDBERG, 1974). A falta de especificidade do método, observada entre os trabalhos da literatura e neste, deve ser analisada tendo em vista que é esse tipo de lesão o descrito como determinante de depleção de cerca de 80% do conteúdo cerebral de 5-HT.

2.2.2. A lesão fictícia -

Tendo em vista que os procedimentos utilizados para efetuar a lesão podem causar graus variados de edema, micro-hemorragias, laceração de tecidos ou "stress", empregamos a lesão fictícia para avaliar até que ponto tais procedimentos estariam interferindo nas alterações do limiar convulsivo. A lesão fictícia não contribuiu para alterar o limiar convulsivo ao cardiazol. Assim, a aplicação do tratamento estatístico não mostrou diferença significativa entre os animais com lesão fictícia e os animais do Grupo Controle (Quadro XVI). Em relação à estricnina, apenas no terceiro dia houve diminuição do limiar convulsivo que se normalizou no quinto. O caráter transitório e precoce dessa alteração poderia ser explicado por fenômenos passageiros que ocorreram em estruturas onde atua a droga. Além disso, deve ser assinalado que a alteração do limiar convulsivo à estricnina no terceiro dia, no Grupo com Lesão Eletrolítica, foi, como pode ser observado no

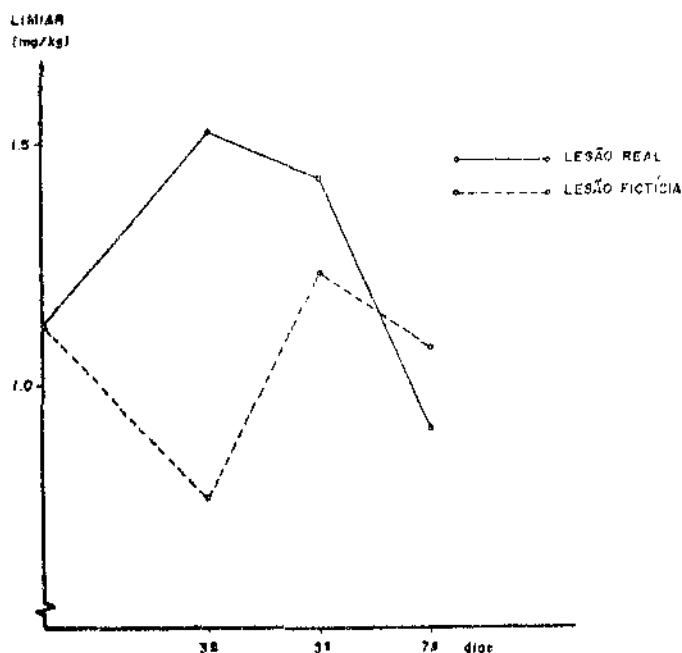


GRÁFICO VII - Evolução do limiar convulsivo à estricnina nos Grupos com Lesão Eletrolítica e com Lesão Fictícia dos núcleos rafeanos.

Gráfico VII, o oposto do verificado no Grupo com Lesão Fictícia.

2.2.3. A lesão eletrolítica -

A lesão eletrolítica dos núcleos da rafe / tornou os ratos mais sensíveis ao cardiazol no 39 e 59 / dias após a lesão, enquanto o limiar convulsivo à estricnina, contrariamente, aumentou no 39 dia.

Não encontramos, na literatura, estudos referentes a alterações do limiar convulsivo após lesão dos

núcleos triptaminérgicos.

Sabe-se que o tratamento com pCPA leva à depleção máxima de cerca de 70 a 80% do conteúdo cerebral de 5-HT (MILLER e col., 1970; PUJOL e col., 1971 e SHEARD , 1973). Níveis comparáveis de depleção dessa amina são obtidos com destruição dos núcleos da rafe. Portanto, considerando-se apenas o índice de depleção, poderíamos, pelo menos em relação ao cardiazol, estabelecer identidade de comportamento entre os dois Grupos, Lesão e Depleção. No entanto, o restabelecimento de níveis normais de limiar convulsivo ao cardiazol foi precoce no Grupo Lesão Eletrolítica. Alguns fatores podem ter contribuído para que esse comportamento ocorresse:

1 - os animais do Grupo com Lesão Eletrolítica, dada a natureza localizada da lesão, poderiam ter preservados / neurônios triptaminérgicos suficientes para o restabelecimento mais precoce do limiar convulsivo, enquanto que os tratados com pCPA (Grupo Depleção), apresentaram comportamento diverso provavelmente em decorrência da ação difusa da droga;

2 - os animais lesados poderiam ter desenvolvido hipersensibilidade pós-sináptica, a qual poderia compensar a depleção de 5-HT, uma vez que o desenvolvimento desta hipersensibilidade ocorre com neurônios catecolaminérgicos . Assim, a denervação crônica de sinapses nor-adrenérgicas / aumenta a sensibilidade delas à NE (BARCHAS & USDIN, 1973);

3 - além das estruturas inibidoras, a lesão poderia ter destruído parte do sistema excitador. Assim, a formação reticular mesencefálica, que exerce influência facilitadora sobre a atividade hipersincrônica induzida pelo / cardiazol (FREEDMAN & MOOSY, 1953; FREEDMAN & FERRIS , 1956; GELHORN e col., 1959 e JINNAY e col.,1969), ao ser destruída, comprometeria quantitativamente o sistema excitador. Sendo válida esta hipótese, poderíamos explicar o retorno ao normal da sensibilidade às convulsões pelo estabelecimento de um novo estado de equilíbrio, onde, em correspondência a um sistema inibidor diminuído funcional e quantitativamente, haveria um sistema excitador também proporcionalmente diminuído.

Qualquer que seja a hipótese, deve ser ressaltado que KUHAR e col.(1974) demonstraram níveis baixos de 5-HT até três meses após a lesão. Este fato,em confronto com a normalização do limiar ao cardiazol,no Grupo com Lesão Eletrolítica, coloca em posição questionável o conceito difundido na literatura de que a depleção de 5-HT diminui a sensibilidade às convulsões.

Por outro lado, quanto à estricnina, observamos que, com a lesão, ocorreu aumento do limiar, isto é,os animais ficaram protegidos da convulsão induzida por essa droga. Tendo em vista que nesse tempo já existem níveis bastante diminuídos de 5-HT (KUHAR e col., 1974) somos levados a supor que as alterações do limiar convulsivo à estricnina não dependem, ou dependem apenas parcialmente, da concentração de 5-HT cerebral. Interessante observar que nesse mesmo momento (terceiro dia) os animais lesados apresentaram a hiper -

cinesia ambulatória já referida. Como esse tipo de alteração comportamental frequentemente é relacionado com alterações / dos níveis de catecolaminas cerebrais (RANDRUP e col.,1963 ; RANDRUP & MUNKVARD,1966b;FOG e col.,1967;RANDRUP & MUNKVARD , 1967; SCHEEL-KRUGER & RANDRUP, 1967 e FOG & PAKKENBERG,1971b) seria válido especular se a proteção obtida em nossos animais, nesse momento, não estaria relacionada com hiperatividade catecolaminérgica. Além dessa evidência, outras nos levam a acreditar na participação do sistema catecolaminérgico na gênese e/ou na manutenção de alterações da sensibilidade às convulsões. Assim, o exame histológico mostrou que a lesão progrediu lateralmente e no sentido crânio-caudal, atingindo, provavelmente, vias catecolaminérgicas cujo percurso é muito próximo ao das vias triptaminérgicas, como pode ser observado na Figura 18.

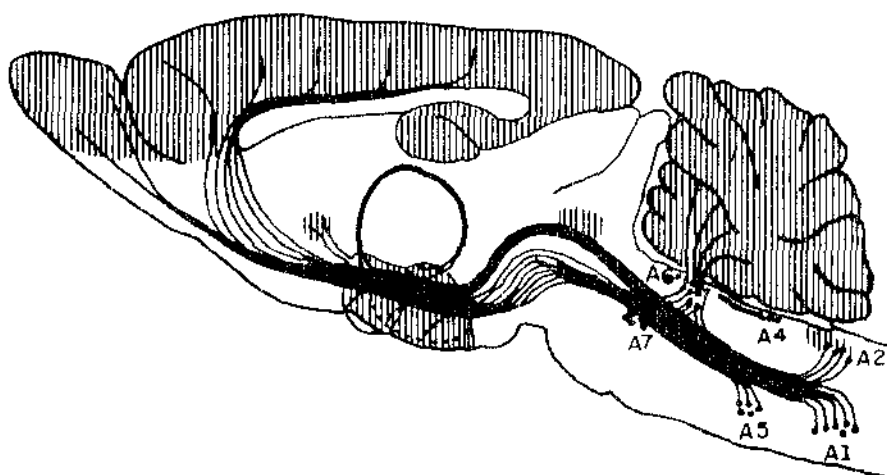


Figura 18 - Projeção sagital das vias nor-adrenérgicas ascendentes do cérebro de rato, segundo UNGERS - TEDT (1971). A₁,A₂,A₅ e A₇ constituem grupos celulares da medula oblonga e da ponte e dão origem a importantes vias ascendentes nor-adrenérgicas.

Além disso, os animais após a lesão apresentaram nítidas estereotípias comportamentais. Embora não seja objetivo deste trabalho discutir os mecanismos responsáveis por tais estereotípias, é de fundamental importância/considerá-las, desde que há evidências de que decorram de comprometimento de outros circuitos neuroquímicos, principalmente os catecolaminérgicos.

Várias formas de alteração comportamental têm sido descritas em animais que recebem drogas que alteram o conteúdo das aminas cerebrais. Estados de excitação, caracterizados por atitude de combate, vocalização e súbitas / corridas, ocorrem em ratos tratados com inibidores da MAO associados a L-dopa - o precursor fisiológico das catecolaminas (SCHEEL-KRUGER & RANDRUP, 1967). A anfetamina, em ratos, induz estereotípias que consistem em fungos contínuos, lambidas, mordidas e ausência de comportamento normal como andar, comer e "grooming" (RANDRUP e col., 1963 e RANDRUP & MUNKVARD, 1966b). As estereotípias anfetamínicas também são vistas em outros animais e no homem (RANDRUP & MUNKVARD, 1967 e 1970) e podem ser induzidas por microinjeções de p-hidroxianfetamina e dopamina no corpo estriado (FOG e col., 1967 e FOG & PAKKENBERG, 1971b). No entanto, quando se trata os animais com α -metiltirosina - inibidora da L-dopa, impede-se o aparecimento destas estereotípias / (RANDRUP & MUNKVARD, 1966a; WEISSMAN e col., 1966 e HANSON, 1967). Todavia, a inibição seletiva da síntese da noradrenalina, pelo tratamento com dietilditilcarbamato, não impede o aparecimento dessas estereotípias (RANDRUP & SCHEEL-KRUGER, 1966). Estes trabalhos sugeriram aos autores que as aminas cerebrais estão envolvidas na gênese das

estereotípias provocadas pela anfetamina. Por outro lado , ratos tratados com reserpina mostram alternância entre estado de completa catalepsia e explosões de hiperatividade motora, com locomoção dianteira, fungar contínuo e levantar/sobre as patas traseiras (SCHEEL-KRUGER & RANDRUP, 1968 e SCHIÖRRING & RANDRUP, 1968). Estas estereotípias comportamentais parecem depender, segundo os autores, de mecanismos colinérgicos centrais, desde que drogas com ação colinérgica central as aumentam, enquanto drogas anticolinérgicas as inibem.

Lesões mecânicas bilaterais do corpo estriado, hipocampo, tálamo e córtex cerebral, provocam, em ratos , estereotípias caracterizadas por fungar e morder contínuos, ausência das atividades normais e períodos de catalepsia / (FOG & PAKKENBERG, 1971a).

Níveis cerebrais elevados de catecolaminas em ratos provocam hipercinesia ambulatória. Se, em seguida , os animais forem tratados com reserpina, há acentuação da hiperatividade motora e aparecem atitude de combate e aumento da sexualidade. Se, em lugar da reserpina, for administrado pCPA, a atitude de combate e a sexualidade se intensificam (BENKERT e col., 1973).

Esses trabalhos, portanto, sugerem a participação dos sistemas catecolaminérgico e triptaminérgico na gênese das estereotípias comportamentais.

Apesar de LORENS e col. (1971) terem sugerido que alterações comportamentais possam decorrer somente da lesão, aquelas observadas nos animais do Grupo Lesão Eletrolítica, assemelham-se às estereotípias provocadas por

aumento das catecolaminas o que pode sugerir que a lesão eletrolítica comprometeu, direta ou indiretamente, outros circuitos neuroquímicos. Portanto, não podemos afirmar / que as alterações da sensibilidade às convulsões tenham decorrido apenas da depleção de 5-HT ou, da lesão das vias triptaminérgicas.

Assim, é possível que a lesão eletrolítica , afetando provavelmente, de forma direta ou indireta, além do sistema triptaminérgico, o catecolaminérgico e outros resulte em variação do limiar convulsivo consequente a alteração simultânea de fatores interdependentes que participam na regulação da sensibilidade às convulsões.

2.3. Análise conjunta dos Grupos Lesão Eletrolítica e Depleção, e dos possíveis mecanismos reguladores da sensibilidade às convulsões.

Quando analisamos conjuntamente os resultados do Grupo Lesão Eletrolítica e os do Grupo Depleção , observamos que, em relação ao cardiazol, houve um comportamento coincidente, isto é, tanto a destruição dos núcleos da rafe quanto o tratamento com pCPA ocasionaram / diminuição do limiar convulsivo. A partir da proposição/ inicial de empregar esses procedimentos para diminuir o conteúdo cerebral de 5-HT, era este o comportamento esperado para os dois Grupos, embora tenha ocorrido normalização mais precoce do limiar ao cardiazol após a lesão.

Quando analisamos dentro de um mesmo Grupo o comportamento do limiar convulsivo ao cardiazol e à estricnina, comprovamos que ocorreram diferenças dependendo do convulsivante usado, como pode ser observado pela comparação dos Gráficos VIII e IX.

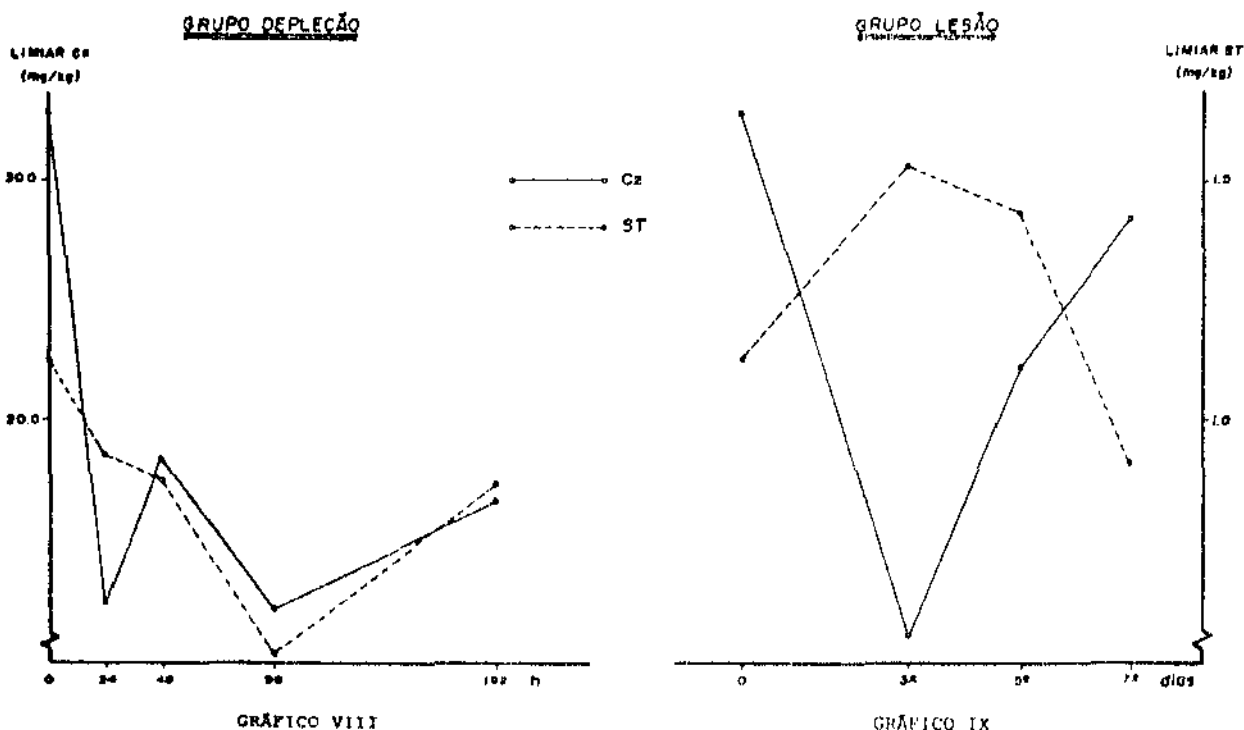


GRÁFICO VIII

GRÁFICO IX

Comportamento evolutivo do limiar convulsivo ao cardiazol e à estricnina nos Grupos com Depleção (G.VIII) e com Lesão Eletrolítica dos núcleos rafeanos (G.IX).

Como vemos o comportamento é diferente, tanto no Grupo Lesão Eletrolítica quanto no Grupo Depleção. Isto nos leva a concluir, pelo menos, que estudos de sensibilidade às convulsões devem ser interpretados levando-se em consideração o tipo de convulsão e o agente convulsivante/empregado.

Na análise conjunta dos resultados fica evidente que, se formos adotar as idéias vigentes na literatura, e que relacionam o limiar convulsivo apenas ao conteúdo de 5-HT, poderemos encontrar uma explicação válida para os re

sultados obtidos com o cardiazol nos dois Grupos, pois sabe-se que o conteúdo de 5-HT está bastante diminuído nos momentos em que determinamos o limiar convulsivo, tanto após a administração de pCPA, quanto após a lesão. Fica entretanto sem explicação a recuperação precoce observada no Grupo Lesão Eletrolítica. Por outro lado, para explicar o comportamento do limiar à estricnina após a pCPA temos que admitir um nível crítico de depleção ocorrendo às 96 horas e necessário para a alteração da sensibilidade às convulsões. Como pode ser observado, a teoria corrente também não explica o aumento aparentemente contraditório do limiar convulsivo à estricnina após a lesão.

Diante disso, para explicar os resultados verificados neste trabalho é necessário que se admitam outras hipóteses que passaremos a discutir:

1 - as alterações do limiar convulsivo observadas no Grupo com Lesão Eletrolítica dependeriam da ação dos produtos consequentes à necrose tissular.

Não temos elementos para afastar esta hipótese. Supondo que seja verdadeira, devemos admitir, entretanto, que as interações desses produtos de necrose com os agentes convulsivantes resultaram em respostas diversas, o que pressupõe a existência de mecanismos diversos na regulação da sensibilidade às convulsões.

2 - As alterações do limiar convulsivo observadas no Grupo com Lesão Eletrolítica dependeriam dos efeitos da privação do sono que ocorre após a lesão.

Além de não explicar a normalização do limiar convulsivo ao cardiazol neste Grupo, esta hipótese também não explica o ocorrido com o limiar à estricnina desde que há sugestões de que a privação de sono aumenta a excitabilidade cerebral (COHEN e col.,1965,1967, e DEWSON e col.1967).

3 - As alterações do limiar convulsivo observadas nas condições da presente investigação dependeriam de mecanismos complexos em que sistemas excitadores e inibidores da excitabilidade cerebral interagem sob a mediação de diversas aminas cerebrais.

Segundo esta hipótese, uma interpretação unívoca / para as alterações observadas no limiar convulsivo torna-se possível quando consideramos a proposição inicial deste trabalho de utilizar a estricnina e o cardiazol para avaliar o estado funcional dos sistemas estimulador e inibidor da excitabilidade cerebral. Portanto, passaremos a discutir nossos resultados, embora de forma especulativa, em função destes dois sistemas.

ECCLES (1973) considera a existência no SNC de dois tipos de neurônios: os excitadores (ou facilitadores) e os inibidores, funcionando sempre em todas as terminações sinápticas, de acordo com a função de excitação ou de inibição, respectivamente. A zona ventro-mediana da formação reticular bulbar exerce função inibitória, sendo facilitadora todas as suas projeções restantes (MAGOUN & RHINES, 1946).

Existe ainda um mecanismo positivo de inibição e exercício por um sistema superior, tálamo-caudado (BARRAQUER BORDAS, 1968), que inibe a atividade da formação reticu -

lar estimuladora. Assim, a ação ativadora da formação reticular sobre a excitabilidade cerebral tanto pode depender / do predomínio da excitação (como o que ocorre quando a esttrichina bloqueia as sinapses da formação reticular inibidora), quanto de um processo de liberação do controle exercido pelos centros superiores (sistema tálamo-caudado) quando, por exemplo, estes centros são invadidos pela atividade do cardiazol.

Além de admitirmos como válida a teoria de EC-CLES (1973), aceitaremos, na consideração desta hipótese,

1 - que o limiar convulsivo ao cardiazol representa a manifestação do sistema excitador;

2 - que o limiar convulsivo à esttrichina representa a manifestação do sistema inibidor;

3 - que a administração de pCPA também diminui os ní-veis de NE;

4 - que no Grupo com Lesão Eletrolítica houve depleção de 5-HT e sugestões de aumento da atividade catecolaminérgica.

Tomando como verdadeiras essas premissas, nos -
sos resultados sugerem que a sensibilidade convulsiva não é
função única e exclusiva da concentração de 5-HT, mas de um
estado de equilíbrio entre a atividade triptaminérgica e cate
tecolaminérgica, interferindo de modo diferente em cada um
dos sistemas inibidor e excitador.

Constituem sugestões desta interpretação os seguintes fatos:

1 - a resposta do sistema estimulador (cardiazol) após administração de pCPA é precoce, o que sugere maior sensibilidade desse sistema quando ainda, presumivelmente, as concentrações de 5-HT e de NE não atingiram sua depleção máxima;

2 - a resposta do sistema inibidor (estriçnina) , após a administração de pCPA, foi tardia e transitória , diferentemente da resposta do sistema excitador, sugerindo outra forma de mediação na atividade destes sistemas;

3 - a resposta do sistema excitador, após a lesão , foi diferente da observada após a depleção, embora presumivelmente haja, nas duas situações, níveis baixos de 5-HT. Isto sugere que a atividade do excitador não depende apenas da 5-HT;

4 - a resposta do sistema inibidor, após a lesão , foi inesperada se considerarmos apenas o nível de depleção de 5-HT, o que sugere que este sistema sofre algum / outro tipo de ação relacionada, provavelmente, com a atividade catecolaminérgica.

Tendo em vista as observações assinaladas, poderíamos representar, esquematicamente, a hipótese levantada da seguinte forma:

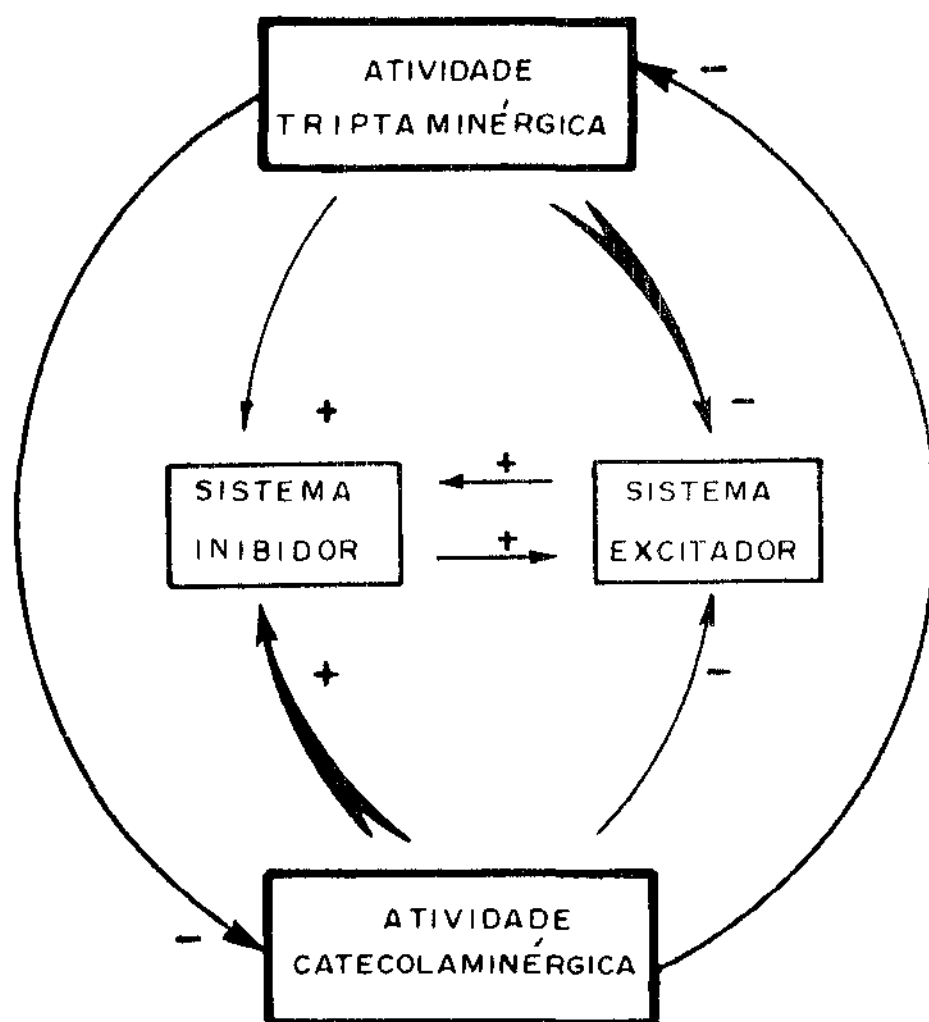


Figura 19 - Representação esquemática da atividade triptaminérgica e catecolaminérgica sobre os sistemas estimulador e inibidor da excitabilidade cerebral. O sinal (-) indica ação frenadora e o sinal (+), ação liberadora.

Observamos, na literatura, que, em estudos relativos ao sono, é preconizado um modelo funcional que se baseia também na interação de dois sistemas antagônicos, o do sono e o da vigília, ambos sob a ação da serotonina. A depleção desta amina, seja pelo tratamento com pCPA, seja por lesão dos núcleos da rafe, acompanha-se de intensa redução do sono (RENAULT, 1967; KOELLA e col., 1968 e JOUVET, 1973). Uma das hipóteses sugeridas para explicar o papel da 5-HT / sobre os dois sistemas antagônicos (KOELLA, 1974), acha-se representada no esquema abaixo.

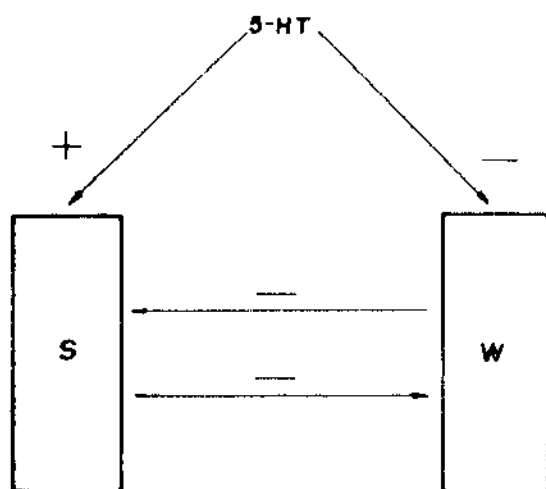


Figura 20 - Representação esquemática do envolvimento recíproco e dual da 5-HT na organização do sono. "S" representa o sistema do sono, incluindo as áreas efetoras. O sinal (+) indica que a 5-HT atua dentro desse / sistema como promotora do sono. "W" representa o sistema de vigília ou de alerta. O sinal (-) indica ação inibidora dentro ou fora do sistema. Note-se a ação recíproca da 5-HT em antagonizar o sistema sono-vigília e a retroação positiva / entre sono e vigília (Reproduzido de KOELLA (1974), com autorização solicitada).

Entretanto, há sugestões de que a 5-HT não é o único mediador relacionado a sono e vigília, pois o tratamento crônico com pCPA provoca insônia em gatos apenas/nas fases iniciais, havendo restauração do sono na vigência de níveis baixos da amina (DEMENT, 1972).

A hipótese que levantamos pode ser aplicada / para explicar os trabalhos da literatura que demonstraram proteção às convulsões em animais com aumento da concentração cerebral de serotonina, bem como aqueles que demonstraram que a depleção da amina exerce efeito oposto.

Quanto à atividade catecolaminérgica, deve-se destacar novamente o trabalho de JOBE e col. (1973) que demonstraram existir uma correlação entre depleção de NE e aumento da intensidade de convulsões audiogênicas. Além disso, já foi demonstrado também que a lesão dos núcleos/da rafe, em ratos, é seguida de alterações da concentração cerebral de NE (LORENS e col., 1971).

O conceito de que a excitabilidade cerebral é função apenas da concentração de serotonina já foi contestado por ALEXANDER e col. (1971) que encontraram proteção às convulsões audiogênicas em camundongos tratados / com pCPA e por SCHLESINGER e col. (1965) que encontraram dados sugestivos de que tanto a NE quanto a 5-HT são importantes na determinação da susceptibilidade às convulsões audiogênicas. Estes fatos, e outros referidos na literatura (KELLOG, 1971), sugerem que os neuromecanismos responsáveis pela excitabilidade cerebral podem variar / com a espécie animal. Por outro lado, sabe-se também que as concentrações regionais das aminas biogênicas são va -

riáveis na espécie (SCUDDER e col.,1966; ASANO, 1971 e KELLOG, 1971) e entre as espécies (CHASE & MURPHY,1973). Essas observações são sugestões indiretas da complexidade do mecanismo regulador da sensibilidade às convulsões.

Os resultados do presente trabalho podem ser explicados, de acordo com a hipótese levantada, da seguinte forma:

1 - após tratamento com pCPA, a depleção de 5-HT e NE provocaria diminuição mais acentuada da ação inibitória exercida pela atividade triptaminérgica sobre o sistema excitador e diminuiria discretamente a ação facilitadora da atividade catecolaminérgica sobre o sistema inibidor. A resultante seria o predomínio do excitador, evidenciado pela queda precoce do limiar convulsivo ao cardiazol;

2 - após tratamento com pCPA, haveria necessidade de um nível crítico de depleção das atividades catecol e / triptaminérgica, abaixo do qual ocorreria falência do sistema inibidor. Este nível seria atingido em torno do 4º / dia; a normalização do limiar convulsivo à estricnina, no 8º dia, poderia decorrer da elevação dos níveis de NE;

3 - após a lesão, o predomínio do excitador seria decorrente, fundamentalmente, da depleção de 5-HT. A normalização do limiar convulsivo ao cardiazol seria a expressão de um novo estado de equilíbrio entre os dois sistemas, obedecendo mecanismos aventados e discutidos anteriormente;

4 - após a lesão, o predomínio do sistema inibidor seria decorrente, fundamentalmente, de hiperatividade catecolaminérgica na presença de níveis baixos de 5-HT. A normalização do limiar à estricnina seria consequência de diminuição da atividade catecolaminérgica, ainda diante de baixos níveis de serotonina.

Apesar de acreditarmos que a 5-HT e a NE exercem papel efetivo no equilíbrio dos sistemas inibidor e estimulador da excitabilidade cerebral, o estabelecimento definitivo de interdependências das aminas aos neuromecanismos/que interferem na sensibilidade às convulsões é tarefa muito difícil. Para isso, seriam necessários conhecimentos / completos dos mecanismos de biotransformação, distribuição/ regional, celular e subcelular das aminas, da dependência / de seu papel regulador com a integridade de um determinado/ sistema neuronal e do papel dos receptores triptaminérgicos e nor-adrenérgicos em iniciar ou modificar a ação de determinada droga, entre outros. Além disso, se considerarmos as aminas independentemente, outros aspectos vêm dificultar a interpretação dos resultados. Assim, devem ser considerados tanto os efeitos da 5-HT no receptor triptaminérgico e da NE no receptor catecolaminérgico, quanto os efeitos dos receptores sobre a síntese e a liberação das aminas. Finalmente, devem ser consideradas as interações de outras aminas e/ou outras substâncias químicas sobre os processos neuronais e bioquímicos que estão ocorrendo, normalmente, ou decorrentes de desvios metabólicos que eventualmente possam derivar do modelo experimental. Um exemplo desses / desvios é o que ocorre com a metabolização do triptofano / quando se administra pCPA com inibidor da MAO. Nesta situa-

ção, ocorre maior formação de n-metil-triptamina a qual, no homem, reproduz efeitos psicomiméticos (SZARA, 1956 e SAI-HALASZ e col., 1958).

Julgamos que os métodos atualmente utilizados/ em estudos de sensibilidade às convulsões são pouco específicos. Na literatura, ressalta ainda o fato de os pesquisadores, empregando diferentes modelos de convulsão experimental, não referirem os mecanismos que presidem cada uma dessas convulsões. Estes fatores, associados à complexidade anatômica e funcional dos sistemas catecolaminérgico e triptaminérgico, têm levado os autores a proporem novos caminhos para as pesquisas nesse campo, que apontam, em uma primeira fase, o estabelecimento efetivo das vias e conexões serotoninérgicas, e, em seguida, o estudo de suas alterações comparadas à variação de funções como sono e sexualidade, entre outras.

Apesar disso, e do caráter especulativo que imprimimos a esta discussão, julgamos que nossos resultados/ mostraram, de modo inequívoco, que estudos de sensibilidade às convulsões devem ser feitos evolutivamente e que se deve sempre ter em conta que os resultados podem variar em função não só das técnicas empregadas para provocar convulsões como daquelas utilizadas para atuar nos sistemas aminérgicos cerebrais.

R E S U M O -

Em 153 ratos adultos (WISTAR), machos, estudamos o efeito evolutivo da destruição eletrolítica de núcleos da rafe e da administração de p-clorofenilalanina / (300 mg/kg) sobre o limiar convulsivo ao cardiazol e à estricnina. Consideramos limiar convulsivo a quantidade / de droga por kg de animal necessária para provocar o aparecimento de potenciais típicos captados no tronco cerebral (estricnina) e no córtex cerebral (cardiazol). Nos animais que receberam p-clorofenilalanina (pCPA) determinamos o limiar convulsivo 24, 48, 96 e 192 horas após administração da droga, e nos que sofreram lesão, no 3º, 5º e 7º dias após a mesma. O limiar convulsivo foi ainda determinado em um grupo de animais sem tratamento prévio (Grupo Controle) e em outro no qual efetuamos lesão eletrolítica simulada (Grupo com Lesão Fictícia). Anotamos a ocorrência ou não de estereotípias comportamentais relativas à postura, marcha, exploração do ambiente e resposta à estimulação ambiental. A extensão da lesão eletrolítica / foi avaliada por exame histológico.

Após análise dos resultados, verificamos:

- 1 - o limiar convulsivo ao cardiazol, após tratamento / com pCPA, diminuiu significativamente, em relação ao controle, em todos os momentos estudados;
- 2 - o limiar convulsivo à estricnina, após tratamento / com pCPA, diminuiu significativamente, em relação ao controle, apenas no momento 96 horas;

3 - houve regressão significativa entre os valores de limiar convulsivo à estricnina e ao cardiazol e os diferentes tempos após administração de pCPA;

4 - houve diferença entre o comportamento evolutivo do limiar convulsivo na dependência do agente convulsivante/empregado;

5 - o exame histológico do cérebro dos animais submetidos a lesão eletrolítica mostrou extensão de área lesada/compatível com destruição dos núcleos dorsal e mediano da rafe. As lesões estenderam-se tanto no sentido crânio-caudal quanto lateral, comprometendo estruturas vizinhas aos núcleos dorsal e mediano da rafe;

6 - o limiar convulsivo ao cardiazol, após lesão fictícia, não se alterou significativamente. O limiar à estricnina diminuiu significativamente no 3º dia após lesão;

7 - o limiar convulsivo ao cardiazol diminuiu no 3º e 5º dias após a lesão eletrolítica dos núcleos dorsal e mediano da rafe, normalizando-se no 7º dia;

8 - o limiar convulsivo à estricnina aumentou significativamente no 3º dia após a lesão eletrolítica dos núcleos dorsal e mediano da rafe, normalizando-se a partir do 5º dia;

9 - apenas os animais submetidos a lesão eletrolítica apresentaram estereotípias comportamentais. Estas estereotípias, semelhantes às descritas na literatura como decorrentes do aumento dos níveis de catecolaminas cerebrais, correram a partir do 3º dia após a lesão, desaparecendo no 7º dia.

C O N C L U S ã O -

As alterações do limiar convulsivo, após administração de p-clorofenilalanina (pCPA) e após lesão eletrolítica de núcleos da rafe, diferiram com o convulsivante - cardiazol ou estriçnina - e com o método empregado para reduzir os níveis cerebrais de serotonina (5-HT). Portanto, estudos desta natureza devem considerar o mecanismo fundamental em cada tipo de convulsão uma vez que resultados contraditórios podem decorrer da variação do modelo experimental.

A dependência observada entre o limiar convulsivo e o tempo decorrido para a atuação no sistema serotoninérgico permite concluir que nestes estudos os resultados devem ser interpretados à luz dessa dependência.

A normalização do limiar convulsivo em tempos nos quais a concentração de 5-HT presumivelmente ainda é baixa torna questionável a idéia difundida na literatura / de que, em relação às aminas cerebrais, o limiar convulsivo depende apenas da concentração de 5-HT.

R E F E R E N C I A S B I B L I O G R Á F I C A S

- AGHAJANIAN, G.K.; ROSECRANS, J.A. & SHIHARD, M.H.: Serotonin release in the forebrain by stimulation of midbrain raphe. Science, 159: 402-403, 1967.
- ALEXANDER, G.J. & KOPELOFF, L.M.: Metrazol seizures in rats: effect of p-chlorophenylalanine. Brain Res, 22: 231-235, 1970.
- ALEXANDER, G.J.; KOPELOFF, L.M. & ALEXANDER, R.B.: Anticonvulsive effect of p-chlorophenylalanine in audiogenic mice. Life Sci, 10: 877-882, 1971.
- ANDÉN, N.-E.; DAHLSTRÖM, A.; FUXE, K.; LARSSON, K.; OLSSON, L. & UNGERSTEDT, U.: Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. Acta Physiol Scand, 87: 311-326, 1966.
- ANDÉN, N.-E.; DAHLSTRÖM, A.; FUXE, K. & LARSSON, K.: Mapping out of catecholamine and 5-hydroxytryptamine neurons innervating the telencephalon and diencephalon. Life Sci, 4: 1275-1279, 1965.
- ASANO, Y.: The maturation of the circadian rhythm of brain norepinephrine and serotonin in the rat. Life Sci, 10: 883-894, 1971.
- BARCHAS, J. & USDIN, E.: Serotonin and Behaviour. New York and London, Academic Press, 1973.
- BARRAQUER BORDAS, L.: Neurología Fundamental. Segunda Edición. Barcelona, Ediciones Toray, S.A., 1968, pág. 289.
- BENKERT, O.; RENZ, A. & MATUSSEK, N.: Dopamine, noradrenaline and 5-hydroxytryptamine in relation to motor activity, fighting and mounting behaviour. II. L-dopa and di-threo dihydroxyphenylserine in combination with Ro 4-4602 and parachlorophenylalanine. Neuropharmacol, 12: 187-193, 1973.
- BOGGAN, W.O.: Serotonin and convulsions. In: Serotonin and Behaviour. Ed.: BARCHAS, J. & USDIN E., New York and London, Academic Press, 1973, pág. 167-172.
- BOGGAN, W.O.; FREEDMAN, D.X.; LOVELL, R.A. & SCHLESINGER, K.: Studies in audiogenic seizure susceptibility. Psychopharmacol (Berlin), 20: 48-56, 1971.
- BOGGAN, W.O. & SEIDEN, L.S.: 5-hydroxytryptophan reversal of reserpine enhancement of audiogenic seizure susceptibility in mice. Submitted to Physiology and Behaviour, apud BOGGAN, 1973.
- BONNYCASTLE, D.D.; GIARMAN, N.J. & PAASINEN, M.K.: Anticonvulsant compounds and 5-hydroxytryptamine in rat brain. Brit J Pharmacol Chemother, 12: 228-231, 1957.
- BUKBAUM, D.H.; YARBROUGH, G.G. & CARTER, M.E.: Biogenic amines and narcotic effects. I. Modification of morphine-induced analgesia and motor activity after alteration of cerebral amine levels. J Pharmacol Exp Ther, 185: 317-327, 1973.
- CASRILEVITZ, M.; ENGELHARDT, E. & ESSÉRAND, C.A.: Maturation of convulsogenic activity induced by leptazol in the albino rat. Brit J Pharmacol, 42: 31-42, 1971.
- CHASE, T.N.; KATZ, R.I. & KOPIN, I.J.: Effect of anticonvulsants on brain serotonin. Trans Amer Neurol Ass, 94: 236-238, 1969.
- CHASE, T.N.; KATZ, R.I. & KOPIN, I.J.: Effect of diazepam on fate of intracisternally injected serotonin-C¹⁴. Neuropharmacol, 9: 103-108, 1970.
- CHASE, T.N. & MURPHY, D.L.: Serotonin and Central Nervous System function. Ann Rev Pharmacol, 13: 181-197, 1973.
- CHEN, G.; ENSOR, C.R. & BOHNER, B.: A facilitation action of reserpine on the central nervous system. Proc Soc Exp Biol Med, 86: 507-510, 1954.

- CHEN, G., ENSOR, C.R. & BOHNER, B.: Drug effects on disposition of active biogenic amines in the CNS. Life Sci, 7: 1063-1074, 1968.
- COHEN, H.B. & DEMENT, W.: Sleep: changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of paradoxical phase. Science, 150: 1318-1319, 1965.
- COHEN, H.B., DUNCAN, R. & DEMENT, W.: The effect of ECS in rats deprived of REM sleep. Science, 156: 1646-1648, 1967.
- COSCINA, D.V., GRANT, L.D., HALAGURA, S. & GROSSMAN, S.P.: Hyperdipsia after serotonin-depleting midbrain lesions. Nature New Biol, 245: 64-64, 1972.
- CROXTON, F.E.: Elementary statistics with applications in Medicine and the Biological Sciences. N.York, Dover, 1959.
- DAHLSTRÖM, A. & FUXE, K.: Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. Acta Physiol Scand, 62: (Suppl. 232) 1-51, 1964.
- DAHLSTRÖM, A., HAGGENDAL, J. & ÅTACK, C.: Localization and transport of serotonin. In: Serotonin and Behaviour. Ed.: Barchas, J. & Usdin, E., N.York and London, Academic Press, 1973, pág. 87-96.
- De La TORRE, J.C., KAWANAGA, H.M. & MULLAN, S.: Seizure susceptibility after manipulation of brain serotonin. Arch Int Pharmacodyn Ther, 188: 298-304, 1970.
- De La TORRE, J.C. & MULLAN, S.: A possible role for 5-hydroxytryptamine in drug-induced seizures. J Pharm Pharmac, 22: 858-859, 1970.
- DEMENT, W.C., MITLER, M.M. & HENRIKSEN, S.J.: Sleep changes during chronic administration of para-chlorophenylalanine. Revue Canadienne de Biologie, 31: (Suppl.) 239-246, 1972.
- DE SCHAEPODYVER, A.F., PIETTE, Y. & DELANNOIS, A.L.: Brain amines and electroshock threshold. Arch Int Pharmacodyn Ther, 140: 358-367, 1962.
- DEWSON & DEMENT, W.: REM sleep deprivation: a central neural change during wakefulness. Science, 156: 403-406, 1967, apud HOSHINO, 1972.
- ECCLES, J.C.: The Understanding of the brain. Mc Graw-Hill Book Co., New York, 1973.
- ENGELHARDT, E. & ESBÉRARD, C.A.: Maturation of somatomotor responses to strychnine in the albino rat. Brit J Pharmac, 34: 239-247, 1968.
- ESPLIN, D.W. & ZABLOCKA-ESPLIN, B.: Mechanisms of action of convulsants. In: Basic Mechanisms of the Epilepsies. Ed.: Jasper, H.H., Ward, J.A.A. & Pope, A. Boston, Little Brown & Co., 1969, pág. 167-183.
- FENNESSY, M.R. & LEE, J.R.: The effect of benzodiazepines on brain amines of the mouse. Arch Int Pharmacodyn Ther, 197: 37-44, 1972.
- FOG, R. & PAKKENBERG, H.: Intracerebral lesions causing stereotyped behaviour in rats. Acta Neurol Scand, 47: 475-484, 1971a.
- FOG, R. & PAKKENBERG, H.: Behavioral effects of dopamine and p-hydroxyamphetamine injected into corpus striatum of rats. Exp Neurol, 31: 75-86, 1971b.
- FOG, R.L., RANDRUP, A. & PAKKENBERG, H.: Aminergic mechanisms in corpus striatum and amphetamine-induced stereotyped behaviour. Psychopharmacol (Berl), 11: 179-183, 1967.
- FREEDMAN, D.A. & FERRISS, G.S.: Effect of mesencephalic lesions on metrazol-induced cortical activity. Neurology (Minneapolis), 3: 173-178, 1956.
- FREEDMAN, D.A. & MOOSSY, J.: Effect of mesencephalic lesion on the cortical electroconvulsant threshold. Neurology (Minneapolis), 3: 714-720, 1953, apud JINNAI & col., 1969.
- GÁL, E.M.: Metabolism of p-chlorophenylalanine and the molecular aspects of its action. In: Serotonin and Behaviour. Ed. Barchas, J. & Usdin, E., N.Y. and London, Academic Press, 1973, pág. 9-17.

- GAL, E.M.; ROGGEVEEN, A.E. & MILLARD, S.A.: DL-(2-¹⁴C)p-chlorophenylalanine as an inhibitor of tryptophan-5-hydroxylase. *J Neurochem*, **17**: 1221-1235, 1970.
- GELHORN, E.; HALLIN, H.M. & KAWAKAMI, M.: Studies on experimental convulsions with emphasis on the role of the hypothalamus and the reticular formation. *Epilepsia (Amst)*, **1**: 233-254, 1959.
- GEY, K.F. & PLETSCHER, A.: Influence of chlorpromazine and chlorpromazine on the cerebral metabolism of 5-hydroxytryptamine, norepinephrine and dopamine. *J Pharmacol Exp Ther*, **133**: 18-23, 1961.
- GOODWIN, F.K.; DUNNER, D.L. & GERRON, E.S.: Effects of L-Dopa treatment on brain serotonin in depressed patients. *Life Sci*, **10**: 751-759, 1971.
- GRANT, L.D.; COSCINA, D.V.; GROSSMAN, S.P. & FRIEDMAN, D.X.: Muricide after serotonin depleting lesions of midbrain raphe nuclei. *Pharmacol Biochem Behav*, **1**: 77-80, 1973.
- HANSON, L.: Biochemical and behavioral effects of tyrosine hydroxylase inhibition. *Psychopharmacologia*, **11**: 8-17, 1967.
- HASSLER, R. & BAX, I.J.: Submikroskopische Catecholaminspeicher als Angriffspunkte der Psychopharmaka Reserpin und Mono-Amino-Oxydase-Hemmer. *Nervenarzt*, **37**: 493-498 1966, apud KOSTOWSKI e col., 1972.
- HELLER, A. & MOORE, R.Y.: Effect of central nervous system lesions on brain monoamines in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, **150**: 1-9, 1965.
- HENRY, K.R.: Audiogenic seizure susceptibility induced in C57Bl/6J mice by prior auditory exposure. *Science*, **158**: 938-940, 1967.
- HOSHINO, K.: Perturbações motoras agudas induzidas pela lesão eletrolítica da formação mesencefálica em ratos privados do sono paradoxal. Estudo de seus parâmetros e sua natureza. Botucatu, S.P., 1972 (Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu).
- HURT, C.A.; HANAWAY, J. & NETSKY, M.G.: Stereotaxic atlas of the mesencephalon in the albino rat. *Confin Neurol*, **33**: 93-115, 1971.
- JÉQUIER, E.; LOVENBERG, W. & SJOERDSMA, A.: Tryptophan hydroxylase inhibition: the mechanism by which p-chlorophenylalanine depletes rat brain serotonin. *Mol Pharmacol*, **3**: 274-278, 1967.
- JINNAI, D.; MOGAMI, H.; MUKAWA, J.; IWATA, Y. & KOBAYASHI, K.: Effect of brain-stem lesions on metrazol-induced seizures in cats. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, **27**: 404-411, 1969.
- JOBE, P.C.; PICCHIONI, A.L. & CHIN, L.: Role of brain 5-hydroxytryptamine in audiogenic seizure in the rat. *Life Sci*, **13**: 1-13, 1973.
- JOUVET, M.: The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. *Engen Physiol*, **64**: 166-307, 1972.
- JOUVET, M.: Serotonin and Sleep in the cat. In: *Serotonin and Behaviour*, Ed.: Barchas, J. & Usdin, E., N. York and London, Academic Press, 1973, pág. 385-400.
- JOUVET, M.; BOBILLIER, P.; PUJOL, J.F. & RENAULT, J.: Effects des lésions du système du raphe sur le sommeil et la sérotonine cérébrale. *C R Soc Biol*, **12**: 2343-2346, 1966.
- KELLOGG, C.: Serotonin metabolism in the brains of mice sensitive or resistant to audiogenic seizures. *J Neurobiol*, **2**: 209-219, 1971.
- KOE, B.K. & WEISSMAN, A.: p-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin. *J Pharmacol Exp Ther*, **154**: 499-516, 1966a.
- KOE, B.K. & WEISSMAN, A.: Marked depletion of brain serotonin by p-chlorophenylalanine. *Fed Proc*, **25**: 452, 1966b.
- KOE, B.K. & WEISSMAN, A.: The pharmacology of para-chlorophenylalanine, a selective depletor of serotonin stores. In: *Advances in Pharmacology*, Ed.: Gerattini, H. & Shogre, P.A., New York, Academic Press, 1960, Vol. 6B, pág. 29.

- KOELLA, W.P.: Serotonin - A hypnogenic transmitter and antiwaking agent. Adv Biochem Psychopharmacol, 11: 181-186, 1974.
- KOELLA, W.P.; FELDSTEIN, A. & CZICMAN, J.S.: The effect of para-chlorophenylalanine on the sleep of cats. Electroenceph Clin Neurophysiol, 25: 481-490, 1968.
- KOSTOWSKI, W.; GIACALONE, E.; GABRIELINI, S. & VALZELLI, E.: Studies on behavioural and biochemical changes in rats after lesion of midbrain raphe. Europ J Pharmacol, 4: 371-376, 1968.
- KOSTOWSKI, W. & GIACALONE, E.: Effects of psychotropic drugs on the release of serotonin induced by electrical stimulation of midbrain raphe in rats. In: The present Status of Psychotropic Drugs. Ed.: Carletti, A. & Dovo, F.J., Amsterdam, Excerpta Medica Found., 1969, pag. 289-291.
- KOSTOWSKI, W.; GUMULKA, W. & CZLONKOWSKI, A.: Reduced cataleptogenic effects of some neuroleptics in rats with lesioned midbrain raphe and treated with p-chlorophenylalanine. Brain Res, 48: 443-446, 1972.
- KUHAR, M.J.; AGHAJANIAN, G.K. & ROTH, R.H.: Serotonin Neurons: a synaptic mechanism for the reuptake of serotonin. Adv Biochem Psychopharmacol, 10: 287-295, 1974.
- KUHAR, M.J.; AGHAJANIAN, G.K. & ROTH, R.H.: Tryptophan hydroxylase activity and synaptosomal uptake of serotonin in discrete brain regions after midbrain raphe lesions: correlations with serotonin levels and histochemical fluorescence. Brain Res, 144: 165-176, 1972, a.
- KUHAR, M.J.; ROTH, R.H. & AGHAJANIAN, G.K.: Synaptosomes from forebrains of rats with midbrain raphe lesions: selective reduction of serotonin uptake. J Pharmacol Exp Ther, 181: 36-45, 1972, b.
- KUSCHINSKY, K.; SEIDEL, G.; REETZ, E. & MEYER-BURGHORF, C.: The effect of pentobarbital on brain 5-HT metabolism in mice. Exper, 29/7: 826-827, 1973.
- LEHMANN, A.: Psychopharmacology of the response to noise, with special reference to audiogenic seizures in mice. In: Physiological Effects of Noise. Ed.: Welch, B.L. & Welch, A.S., New York, Plenum Press, 1970, apud BOGGAN, 1973.
- LEWIN, J. & ESPLIN, D.W.: Analysis of the spinal excitatory action of pentylentetrazol. J Pharmacol Exp Ther, 132: 245-250, 1961.
- LORENS, S.A. & GULDBERG, H.C.: Regional 5-hydroxytryptamine following selective midbrain / raphe lesions in the rat. Brain Res, 78: 45-56, 1974.
- LORENS, S.A.; SORENSEN, J.P. & YUNGER, L.M.: Behavioural and neurochemical effects of lesions in the raphe system of the rat. J Comp Physiol Psychol, 77: 48-52, 1971.
- LORENS, S.A.: Raphe lesions in cats: forebrain serotonin and avoidance behaviour. Physiol Behav, 1: 487-490, 1973.
- LORENS, S.A. & YUNGER, L.M.: Morphine analgesia, two-way avoidance and consummatory behaviour following lesions in the midbrain raphe nuclei of the rat. Pharmacol / Biochem Behav, 2: 215-221, 1974.
- MAGOUN, H.W. & RHINES, R.: An inhibitory mechanism in the bulbar reticular formation. J Neurophysiol, 9: 165-171, 1946.
- MARSDEN, C.A. & GULDBERG, H.C.: The role of monoamines in rotation induced or potentiated by amphetamine after nigral, raphe and mesencephalic reticular lesions in the rat brain. Neuropharmacol, 12: 195-211, 1973.
- Mc GEER, E.G.: Tryptophan hydroxylase inhibitors other than PCPA. In: Serotonin and Behaviour. Ed.: Marchas, J. & Usdin, E., New York and London, Academic Press, 1971, pag. 55-59.

- Mc GEER, E.G.; PETERS, D.A.V. & Mc GEER, P.L.: Inhibition of rat brain tryptophan hydroxylase by 6-halotryptophan. Life Sci, 7: 605-615, 1968.
- MENKES, C.E.L.: Hipertormia em ratos com lesão da formação reticular monocefálica. Botucatu, S.P., 1973 (Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu).
- MILLER, F.P.; COX Jr., R.H.; SNODGRASS, W.R. & MARCKEL, R.P.: Comparative effects of p-chlorophenylalanine, p-chloroamphetamine and p-chloro-N-methylamphetamine on rat brain norepinephrine, serotonin and 5-hydroxyindole-3-acetic acid. Biochem Pharmacol, 19: 435-442, 1970.
- NG, L.K.Y.; CHASE, T.N.; COLPURN, R. & KOPIN, I.J.: Dopamine stimulation induced release from central neurons. Science, 172: 487-489, 1972.
- PARIZEK, J.; HASSLER, R. & RAK, J.J.: Light and electron microscopic autoradiography of substantia nigra of rat after intraventricular administration of tritium labelled norepinephrine, serotonin, dopamine and precursors. Z Zellforsch, 115: 137-148, 1971, apud KOSTOWSKI e col., 1972.
- PFEIFER, A.K. & GALAMBOS, E.: The effect of (-)-p-chloroamphetamine on the susceptibility to seizures and on the monoamine level in brain and heart of mice and rats. J Pharm Pharmacol, 19: 400-402, 1967.
- PIMENTEL GOMES, F.: Curso de Estatística Experimental. Segunda Edição. Piracicaba, 1963, pág. 39-40.
- PLOTNIKOFF, N.; HUANG, J. & HAVENS, P.: Effect of Monoamine Oxidase Inhibitors on Audiogenic Seizures. J Pharm Sci, 52: 172-173, 1963.
- POIRIER, L.J.; Mc GEER, E.G.; LAROCHELLE, L.; Mc GEER, P.L.; BEDARD, P. & BOUCHER, R.: The effect of brain stem lesions on tyrosine and tryptophan hydroxylases in various structures of the telencephalon of the cat. Brain Res, 14: 147-155, 1969.
- PROCKOP, D.J.; SHORE, P.A. & BRODIE, B.B.: Anticonvulsant properties of monoamine oxidase inhibitors. Ann N Y Acad Sci, 80: 643-651, 1959.
- PUJOL, J.F.; BUGUET, A.; FROMENT, J.L.; JONES, B. & JOUVET, M.: The central metabolism of serotonin in the cat during insomnia. A neurophysiological and biochemical study after administration of p-chlorophenylalanine or destruction of the raphe system. Brain Res, 29: 195-212, 1971.
- RANDRUP, A. & MUNKVAD, I.: Dopa and other naturally occurring substances as causes of stereotypy and rage in rats. Acta Psychiatr Scand (Suppl. 191), 42: 193-199, 1966a.
- RANDRUP, A. & MUNKVAD, I.: Role of catecholamines in the amphetamine excitatory response. Nature (London), 211: 540, 1966b.
- RANDRUP, A. & MUNKVAD, I.: Stereotyped activities produced by amphetamine in several animal species and man. Psychopharmacologia (Berl), 11: 300-310, 1967.
- RANDRUP, A. & MUNKVAD, I.: Biochemical, anatomical and psychological investigations of stereotyped behaviour induced by amphetamines. In: Symposium on Amphetamines and Related Compounds. Ed.: Costa, E. & Garattini, S., New York, Raven Press, 1970, pág. 695-713, apud FOG & PAKKENBERG, 1971a.
- RANDRUP, A.; MUNKVAD, I. & UDSEN, P.: Adrenergic mechanisms and amphetamine induced abnormal behaviour. Acta Pharmacol (Kbh), 20: 145-157, 1963.
- RANDRUP, A. & SCHEEL-KRÜGER, J.: Diethyldithiocarbamate and amphetamine stereotype behaviour. J Pharm Pharmacol, 18: 752, 1966, apud FOG & PAKKENBERG, 1971a.
- RAPPORT, M.M.; GREEN, A.A. & PAGE, I.H.: Partial purification of the vasoconstrictor in bovine serum. J Biol Chem, 174: 735-741, 1948.

- RENAULT, J.: Monamines et sommeil. III. Rôle du système du raphe et de la sérotonine cérébrale dans l'endormissement. Thèse de Médecine, Lyon, 1967, apud PUJOL e col., 1971.
- SAI-HALASE, A.; BRUNECKER, G. & SZARA, S.: Dimethyltryptamine ein neues psychotikum. Psychiat Neurol, 135: 285, 1958.
- SHEEL-KRÜGER, J. & RANDRUP, A.: Stereotype hyperactive behaviour produced by dopamine in the absence of noradrenaline. Life Sci, 6: 1389-1398, 1967.
- SHEEL-KRÜGER, J. & RANDRUP, A.: Pharmacological evidence for a cholinergic mechanism / in brain involved in a special stereotyped behaviour of reserpined rats. Brit J Pharmacol, 34: 217, 1968, apud FOG & PARKERBERG, 1971a.
- SCHJØRRING, E. & RANDRUP, A.: "Paradoxical" stereotyped activity of reserpined rats. Int J Neuropsychopharmacol, 7: 71-73, 1968.
- SCHLESINGER, K.; BOGGAN, W. & FREEDMAN, D.X.: Genetics of audiogenic seizures. I. Relation to brain serotonin and norepinephrine in mice. Life Sci, 4: 2345-2351, 1965.
- SCHLESINGER, K.; BOGGAN, W.O. & FREEDMAN, D.X.: Genetics of audiogenic seizures. III. Time response relationship between drug administration and seizure susceptibility. Life Sci, 9: 721-729, 1970.
- SCHLESINGER, K.; BOGGAN, W.O. & GRIEK, B.J.: Pharmacogenetic correlates of pentylenetetrazol and electroconvulsive seizure thresholds in mice. Psychopharmacol (Berl), 13: 181-188, 1968.
- SCHLESINGER, K.; STAVNES, K.L. & BOGGAN, W.O.: Modification of audiogenic and pentylenetetrazol seizures with gamma-aminobutyric acid, norepinephrine and serotonin. Psychopharmacol (Berl), 15: 226-231, 1969.
- SCHREIBER, R.A. & SCHLESINGER, K.: Circadian rhythm and seizure susceptibility: relation to 5-hydroxytryptamine and norepinephrine in brain. Physiol Behav, 6: 635-640, 1971.
- SCUDDER, C.L.; KARCZAK, A.G.; EVERETT, G.M.; GIBSON, J.E. & RIFKIN, M.: Brain catecholamines and serotonin levels in various strains and genera of mice and a possible interpretation for the correlations of amine levels with electroshock latency and behaviour. Int J Neuropsychopharmacol, 5: 343-351, 1966.
- SHEARD, M.H.: Brain serotonin depletion by p-chlorophenylalanine or lesions of raphe neurons in rats. Physiol Behav, 10: 809-811, 1973.
- SHEARD, M.H. & FREEDMAN, D.X.: The effects of CNS lesions on nor-epinephrine, serotonin and acetylcholine in brain. Brain Res, 3: 292, 1967, apud DAHLSTRÖM e col. 1973.
- SNEDCOR, G.W. & COCHRAN, W.G.: Métodos Estadísticos. México, Compañía Editorial Continental S.A., 1971, pág. 134.
- SZARA, S.: Dimethyltryptamine: its metabolism in man, The relation of its psychotic / effect to the serotonin metabolism. Experientia (Basel), 12: 441, 1956.
- VAN PRAAG, H.M.: Indolamines and the Central Nervous System. A sounding of their clinical significance. Psychiat Neurol Neurochir, 73: 9-36, 1970.
- VILLELA, G.G.; RACILA, M. & TASTALDI, H.: Bioquímica. Rio, Editora Guanabara-Kogan S.A., 1961, pág. 433, 645 e 646.
- WEISSMAN, A.: Antiamphetamine effects following inhibition of tyrosine hydroxylase. J Pharmacol Exp Ther, 151: 339-352, 1965.
- WELCH, B.L. & WELCH, A.S.: Differential activation by restraint stress of a mechanism / to conserve brain catecholamines and serotonin in mice differing in excitability. Nature, 218: 575-577, 1968.
- WISE, C.D.; BERGER, B.D. & STEIN, S.: Benzodiazepine anxiety-reducing activity by reduction of serotonin turnover in the brain. Science, 177: 180-183, 1972.