

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOLOGIA

JUERILA MOREIRA BARRETO

**INFLUÊNCIA DA ANESTESIA SOBRE A PROPAGAÇÃO DA
DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL EM RATOS
NORMAIS E DESNUTRIDOS**

RECIFE-PE
1991

JUERILA MOREIRA BARRETO

**INFLUÊNCIA DA ANESTESIA SOBRE A PROPAGAÇÃO DA
DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL EM RATOS
NORMAIS E DESNUTRIDOS**

Tese apresentada ao Curso de Mestrado
em Biofísica da Universidade Federal de
Pernambuco, como parte dos requisitos
para obtenção do grau de Mestre em
Biofísica.

ORIENTADOR: Prof. Rubem Carlos Araújo Guedes

RECIFE-PE
1991

Barreto, Juerila Moreira

Influência da anestesia sobre a propagação da depressão alastrante cortical em ratos normais e desnutridos / Juerila Moreira Barreto. – Recife : O Autor, 1991.

50 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Biofísica e Radiobiologia, 1991.

Inclui bibliografia.

1. Radiobiologia – Biofísica – Nutrição e neurociência. 2. Depressão alastrante cortical – Ratos normais e desnutridos – Anestesia – Efeito cortical. 3. Atividade elétrica cortical – Registro da propagação da depressão alastrante. I. Título.

**577.352.5
572.437**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
BC2006-292**

JUERILA MOREIRA BARRETO

**INFLUÊNCIA DA ANESTESIA SOBRE A PROPAGAÇÃO DA
DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL EM RATOS
NORMAIS E DESNUTRIDOS**

Tese aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

NAÍDE REGUEIRA TEODÓSIO
(Dept^o de Nutrição da UFPE)

ROMUALDO JOSÉ DO CARMO
(Inst. de Biofísica da UFRJ)

LUIZ BEZERRA DE CARVALHO JR.
(Dept^o de Bioquímica da UFPE)

Quedes (Orientador da mestrande) que
teceu comentários sobre o alto nível
da Banca Examinadora e fez aque-
decimentos aos seus participantes. Em
seguida, fez alguns comentários sobre
o trabalho apresentado pela mestrande.
Sendo prosseguimento a Prof. Nancy
Alves de Souza, solicitou aos presentes
que se retirassem do recinto a
fim de que a Banca Examina-
dora procedesse a avaliação do
trabalho. O resultado lido em
voz alta foi o seguinte: Souza
Náide Reguena Teodorio: Plenamente Aprovado
Prof. Romualdo José do Carmo: Plenamente Aprovado
Prof. Luiz Bezerra de Carvalho: Plenamente Aprovado
Sendo em vista os menções citadas
e de acordo com o Regulamento do
Pós-Graduação em Biofísica a
mestrande foi considerada: Plena-
te aprovada pela Banca Examinadora
fazendo jus ao título de mestre em
Biofísica a que se propõe. E neste
meio fazendo a lista a seguir foi
nominada e em, Valério Mendes de Oli-
veira, Secretário do Mestrado em Bio-
física, lavarei a presente até que data
e assino com os demais membros da
Banca Examinadora. Recife, 20 de
dezembro de 1991.

Romualdo José do Carmo
Náide Reguena Teodorio

À Maria Moreira, minha mãe.
Abdinardo e Teófilo, meus filhos.
A toda a minha família, com
gratidão e carinho. **DEDICO.**

AGRADECIMENTOS

- Às colegas que iniciaram este curso comigo, ALINE, ALANA, TÁSSIA e à prof^a. ÂNGELA, pelo coleguismo destes quase três anos.
- Aos professores e funcionários que integram o MESTRADO EM BIOFÍSICA da Universidade Federal de Pernambuco, pelo apoio Didático-Pedagógico e Técnico no decorrer deste trabalho.
- Às professoras Ana Maria Santos Cabral e Belmira Lara da Silveira Andrade da Costa do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco, bem como a seus funcionários que colaboraram em diversos momentos desta tese.
- À prof^a Maria do Carmo Medeiros, ao prof^o. Airton Teodósio da Silva e demais Funcionários e Estagiários do Laboratório de Fisiologia da Nutrição (LAFISN) no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, pelo incentivo, amizade e ajuda na obtenção de dados.
- A Vilma e Paulo pela paciência e ajuda na digitação deste trabalho no computador.
- A esses e a todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Então um professor disse: “Fala-nos do ensino”.

E ele disse:

“Homem algum poderá revelar-vos senão o que já está meio adormecido na aurora do vosso entendimento.

O mestre que caminha à sombra do templo, rodeado de discípulos, não dá de sua sabedoria, mas sim de sua fé e de sua ternura.

Se ele for verdadeiramente sábio, não os convidará a entrar na mansão de seu saber, mas vos conduzirá antes ao limiar de vossa própria mente.

O PROFETA

Gibran Khalil Gibran

HOMENAGEM

Prof^o, RUBEM CARLOS ARAÚJO GUEDES

"Disseram-vos que a vida é escuridão,
E eu vos digo que a vida é realmente escuridão,
exceto quando há um IMPULSO.

E todo impulso é cego,
exceto quando há SABER.

E todo saber é vão,
exceto quando há TRABALHO.

E todo trabalho é vazio,
exceto quando há AMOR.

E quando trabalhais com amor,
Vós vos unis a vós próprios,
E uns aos outros,
E a DEUS"

GIBRAN

OBRIGADO, pelo seu IMPULSO, pelo seu SABER, pelo seu TRABALHO e pelo seu AMOR; pois dessa forma, o Senhor forjou as bases de um novo pesquisador, que levará a insígnia de sua conduta criteriosa e científica.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição da Dieta "PROBIOTÉRIO" usada, na manutenção do biotério.....	22
TABELA 2 - Composição centesimal da "dieta básica regional" (DBR) usada na alimentação dos animais do grupo desnutrido	23
TABELA 3 - Velocidade de propagação da DA (mm/min) em ratos controle e desnutridos pela DBR, acordados (29 e 39 registros), comparadas àquelas, dos mesmos animais, sob anestesia pelo TH e pela mistura U+C. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão, por hora de registro.	30
TABELA 4 - Velocidade de propagação da DA (mm/min) em ratos controle e desnutridos pela DBR. Neste último registro, as velocidades das três DAs obtidas após a anestesia com TH ou U+C são comparadas àquela registrada imediatamente antes do anestésico. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão, com o número de medidas entre parênteses.....	31
TABELA 5 - Número de DAs "espontâneas" (DAE) em ratos controle e desnutridos pela DER, anestesiados (1º registro) e sem anestesia (3º registro). Entre parênteses são mostrados o número de animais que apresentaram DAE (no numerador) e o número de animais do grupo (no denominador). As diferenças não são significantes.....	37

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Esquerda: eletrodo usado nos experimentos crônicos. O fio de prata (F) era recoberto por tubos de polietileno (T) exceto na ponta (P), que era cloretada e colocada em contato com o córtex. Direita: posição de implantação dos eletrodos no crânio. AC =acrílico; 1 e 2 = eletrodos registradores; Na = anel de plástico fixado em torno do orifício de estimulação; Re = eletrodo de referência.	27
FIGURA 2 – Pesos corporais dos ratos controle e desnutridos pela dieta básica regional (DBR). As barras representam as médias $\pm$ erros-padrão. * = $P < 0,05$ (teste t).....	29
FIGURA 3 – Variação percentual da velocidade de propagação da DA nos animais controle (barras hachuradas) e DBR (barras pontilhadas) na condição sem anestesia (2º e 3º registros). As barras indicam os valores percentuais médios $\pm$ erros-padrão. * = $P < 0,05$, em relação às velocidades obtidas nos mesmos animais, quando anestesiados pelo TH (teste t pareado).	29
FIGURA 4 – Variação percentual da velocidade de propagação da DA nos animais controle (barras hachuradas) e DBR (barras pontilhadas), no último registro, nas três DAs obtidas após a administração de TH. As barras representam os percentuais médios $\pm$ erro-padrão. * = $P < 0,05$, em relação à velocidade medida imediatamente antes da anestesia (teste t pareado).....	32
FIGURA 5 - Variação percentual da velocidade de propagação da DA nos animais controle (barras hachuradas) e DBR (barras pontilhadas), na condição sem anestesia (2º e 3º registros). As barras indicam os percentuais médios $\pm$ erro-padrão. * = $P < 0,05$, em relação às velocidades obtidas nos mesmos animais, quando anestesiados pela mistura U + C (teste t pareado).....	33
FIGURA 6 - Variação percentual da velocidade de propagação da DA nos animais controle (barras hachuradas) e DBR (barras pontilhadas), no último registro, nas três DAs obtidas após a administração de U $\pm$ C . As barras indicam os percentuais médios $\pm$ erro-padrão. * = $P < 0,05$, em relação à velocidade medida imediatamente antes da anestesia (teste t pareado).....	34
FIGURA 7 – Velocidades de propagação da DA (mm/min) em ratos controle (C) e DBR, durante a anestesia pelo TH (experimentos agudos). Cada ponto representa a média $\pm$ erro-padrão nas 5 horas do registro. * = $P < 0,05$, em relação ao respectivo valor do grupo controle (teste t pareado).	35
FIGURA 8 - Registro da variação lenta de voltagem da depressão alastrante (DA) em dois ratos anestesiados com a mistura uretana + cloralose (U + C) e Thionembutal (Th), respectivamente (traçados à esquerda). No centro, vê-se o registro, nos mesmos animais, dois dias após, sem anestesia. À direita, têm-se os traçados após eles terem sido novamente anestesiados, na última sessão de registro. A DA era provocada pela aplicação de KCl (2%) nos tempos delimitados pelas setas, no ponto indicado por “E” no desenho. Notam-se, na condição sem anestesia, as menores latências para a DA percorrer a distância entre os eletrodos 1 e 2 (mostrados no esquema à direita). R = eletrodo de referência. A barra horizontal equivale a 1 minuto. Sinais verticais de calibração equivalentes a -5 mv são apresentados em todos os traçados.	36

RESUMO

A influência da anestesia intraperitoneal com a mistura de uréta na+cloralose (U+C, 1.000 mg/kg + 40 mg/kg, respectivamente) ou com othiopental sódico (TH, 50 mg/kg), sobre a incidência e a propagação da depressão alastrante (DA) foi investigada no córtex cerebral de ratos Wistar adultos (3 a 6 meses de idade), divididos em dois grupos, segundo o estado nutricional: controle (dieta com 23% de proteína) e desnutrido precocemente (da gestação aos 42 dias de idade) pelo uso da "dieta básica regional" (DBR, com 8% de proteínas) de populações humanas da zona da mata de Pernambuco. No dia da primeira sessão de registro, eram implantados três eletrodos (fios de prata recobertos por tubos de polietileno e com as pontas cloretadas em contacto com a superfície cortical): dois, na religião parietal de um dos hemisférios (para o registro) e o terceiro, nos ossos nasais (eletrodo de referência). A atividade elétrica cortical e a variação lenta de voltagem (VLV) que acompanha a DA foram simultaneamente registradas em dois pontos da superfície cortical, em sessões de duas a quatro horas por dia. ADA era deflagrada com KCl a 2%, aplicado por um minuto a um ponto da superfície cortical, a intervalos de 20 a 30 minutos. A primeira sessão era feita com o animal anestesiado. Nos dias seguintes, estando os ratos acordados, realizavam-se mais três sessões. Na última destas, após duas horas, o animal era novamente anestesiado, prosseguindo-se o registro por mais duas horas. Nos animais controle, os dois anestésicos causaram redução da velocidade de propagação da DA. O efeito do TH desaparecia no dia seguinte ao da anestesia inicial, enquanto o da mistura U+C perdurava por mais um a dois dias. No último registro, as velocidades obtidas após a anestesia eram significativamente mais baixas do que aquelas registradas antes da administração dos anestésicos. Nos animais desnutridos pela DBR os efeitos dos anestésicos sobre a propagação da DA foram menos intensos do que os observados nos animais submetidos à dieta controle. Os resultados permitem concluir que: 1 - A anestesia pela mistura U+C ou pelo TH influencia a propagação da DA, reduzindo a sua velocidade; 2 - A técnica utilizada mostrou-se valiosa para o registro da DA em animais não anestesiados, possibilitando a determinação da sua velocidade de propagação nessas condições; 3 - Na desnutrição precoce pela DBR, os efeitos dos anestésicos sobre a DA são reduzidos.

ABSTRACT

The effects of anesthesia with a mixture of urethane plus chloralose (U+C) 1,000.0mg/kg + 40 mg/kg, ip, respectively) or sodium thiopental (TH; 50mg/kg, ip) on cortical spreading depression (SD) were investigated in adult rats (3-6 months of age), submitted to two nutritional conditions: control (fed a standard diet with 23% protein) and previously malnourished (fed the "regional basic diet" - RDB - of human populations of Pernambuco State, in northeastern Brazil, with 8% protein), from gestation up to 42 days of age and then switched to the control diet. On the day of the first recording session, three silver wires insulated with polyethylene tubes (except at their tips, which were chlorided) were implanted on one side of the skull: two in the parietal region (recording electrodes) and the third in the nasal bones (reference electrode). The cortical electrical activity and the slow potential change (SPC) accompanying SD were recorded simultaneously at two points of the cortical surface in daily sessions lasting 2-4 hours each. SD was elicited every 20-30 min by applying 2% KCl to a cortical point for 1 min. In the control rats, both U+C and TH caused a reduction in SD velocity of propagation. The effects of TH disappeared on the day after the initial anesthesia, while those of U+C lasted 1-2 days longer. On the last recording session, SD recorded after anesthesia displayed significantly lower velocities, when compared with those observed before anesthesia. In the RBD group, the effects of the anesthetics on SD were less intense than those in the control rats. The results of the present work allow the following conclusions: 1 - The anesthesia by U+C or by TH influence SD propagation, reducing its velocity; 2 - The technique used presently was shown to be valuable for the recording of SD in non-anesthetized animals, making possible the measurement of its propagation rate, under this condition; 3 - Early malnutrition produced by RBD attenuate the effects of the anesthetics on cortical SD.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVOS.....	17
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
2.1 ANIMAIS	19
2.2 ANESTÉSICOS	19
2.3 DIETAS	20
2.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	21
3 RESULTADOS	28
3.1 PESOS CORPORAIS.....	28
3.2 COMPORTAMENTO DO ANIMAL ACORDADO DURANTE A DA	28
3.3 VELOCIDADES DE PROPAGAÇÃO DA “DA”	32
3.3.1 Anestesia pelo TH.....	32
3.3.2 Anestesia pela mistura U+C	34
3.4 INCIDÊNCIA DE DAS ESPONTÂNEAS	37
3.5 AMPLITUDE E DURAÇÃO DA VLV DA DA.....	38
3.6 TEMPO DE RECUPERAÇÃO DO ECOG	38
4 DISCUSSÃO	39
REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

O estado de anestesia geral caracteriza-se pela ausência da percepção sensorial, induzida geralmente por drogas. A maior parte dos estudos experimentais sobre a atividade elétrica do sistema nervoso utiliza, por razões óbvias, animais anestesiados. Procedimentos cirúrgicos imprescindíveis à abordagem experimental para a estimulação e o registro de potenciais elétricos cerebrais implicam necessariamente no uso de anestésicos, que podem ser administrados por várias vias, com diferentes mecanismos de ação, produzindo sedação, hipnose farmacológica e anestesia geral, etapas consecutivas de uma depressão contínua do sistema nervoso central (SNC) (GILMAN et al., 1987).

As informações obtidas nessas condições têm-se constituído em valioso subsídio para o conhecimento das funções cerebrais. Entretanto, o emprego de anestésicos introduz uma nova variável na função estudada, podendo influir significativamente nos resultados observados (AKESON e DEAMER, 1991; CAIN et al., 1989).

Dentre os diversos anestésicos utilizados, a uretana, a cloralose e o tiopental sódico são amplamente empregados na pesquisa neurofisiológica (CAIN et al., 1989; MILLAR et al., 1989; NICOLL, 1972). Os ésteres do ácido carbâmico (uretanos) são hipnóticos fracos e tóxicos; produzem uma anestesia leve e de longa duração e são freqüentemente administrados em associação com a cloralose para a supressão da atividade muscular que pode ocorrer, quando se usa apenas este último anestésico. A cloralose é preparada pelo aquecimento de quantidades iguais de glicose e hidrato de cloral. Apresenta marcante ação hipnótica e comumente induz atividade muscular espontânea. É particularmente útil para experimentos demorados sem previsão de sobrevivência (HALL e CLARKE, 1987).

O tiopental sódico pode produzir os mais diversos graus de depressão do SNC, desde a sedação suave até a anestesia profunda. À medida que se aprofunda a anestesia, a atividade elétrica do córtex cerebral, observada no eletroencefalograma (EEG), mostra progressiva substituição da atividade rápida, de baixa voltagem, por ondas lentas de maior amplitude. Dentre outras alterações provocadas por anestésicos a nível encefálico tem-se: 1) alteração da permeabilidade da barreira hemato-encefálica favorecendo o transporte de aminoácidos (SAGE e DUFFY, 1979); 2) bloqueio quase completo das respostas epileptiformes induzidas pela estimulação elétrica repetitiva ("kindling", CAIN et al., 1989); 3) redução das respostas termorreguladoras (REFINETTI e CARLISLE, 1988-1989); 4) proteção contra lesões citotóxicas induzidas pelo kainato (FRANDSEN et al., 1990) e; 5) prevenção de lesões cerebrais após isquemia transitória (ARAKI et al., 1990). Administrados antes ou após o começo da isquemia, os anestésicos inibem a liberação dos neurotransmissores para o meio extracelular (BHARDWAJ et al., 1990).

Evidências experimentais têm demonstrado que barbitúricos podem modificar tanto a liberação quanto a ação de neurotransmissores, em regiões cerebrais específicas (IDA et al., 1990; ARAKI et al., 1990). O efeito depressor de anestésicos sobre a excitação sináptica das mais diversas estruturas nervosas (bulbo olfatório, medula espinhal, gânglios simpáticos, junções neuromusculares e córtex olfatório) é consistente com a hipótese de que barbitúricos (e outros anestésicos não relacionados) reduzem a quantidade de transmissores liberados nas sinapses excitatórias (NICOLL et al., 1972).

Os resultados experimentais acima descritos demonstram que os anestésicos influenciam a atividade elétrica cerebral e os fenômenos neurais que

dela dependem. Entre estes, inclui-se a de pressão alastrante (DA), estudada no presente trabalho.

A depressão alastrante da atividade elétrica cortical (DA), descrita originalmente por Leão (1944), pode ser definida como uma reação neuro-humoral "em cascata" associada à liberação de íons potássio e de outras substâncias, (tais como neurotransmissores excitatórios e inibitórios). A DA tem sido encontrada em todas as espécies de animais pesquisadas até o momento (desde peixes até primatas) e não apenas no córtex cerebral, mas também em estruturas sub-corticais (LEÃO e MARTINS-FERREIRA, 1961; FIFKOVÁ et al., 1961) e na retina (GOURAS, 1958; OLIVEIRA-CASTRO e MARTINS-FERREIRA, 1970; MARTINS-FERREIRA et al., 1974 a,b; Do CARMO e MARTINS-FERREIRA, 1984).

A DA é acompanhada por uma ampla mudança na atividade metabólica oxidativa do córtex cerebral (GJEDDE et al., 1981). Caracteriza-se pela depressão da atividade do ECoG, junto com uma variação lenta da voltagem cortical (VLV; BURES et al., 1974; LEÃO, 1972; MARTINS-FERREIRA e Do CARMO, 1987).

Grafstein (1956) baseada no fato de que a aplicação tópica de cloreto de potássio deflagra a DA e também na ocorrência do já referido surto de atividade neuronal à medida que a frente de onda da depressão avança, postulou a hipótese de que o íon potássio seria responsável pelo processo de propagação da DA.

Nos estudos sobre a DA, dois fatos interessantes têm chamado a atenção: 1º que a reação requer a integridade de uma massa crítica de elementos celulares neurais em interação; 2º que receptores para aminoácidos excitatórios (AEE) freqüentemente são citados como envolvidos no fenômeno (LAURITZEN et al., 1988). Contudo, ainda não há evidência experimental definitiva acerca do real

papel desses AAE na deflagração e propagação da DA (GUEDES et al., 1988).

Na descrição inicial da DA, Leão (1944) observou que a deflagração do fenômeno, mediante estimulação elétrica, se fazia com diferentes níveis de dificuldade, dependendo do anestésico empregado. O dial, o nembutal e a cloralose permitiam a deflagração da DA regularmente a cada estimulação. Contudo, em animais anestesiados pelo éter, só se obtinha a DA quando o nível anestésico era bem superficial, sugerindo que este anestésico era inadequado para o registro do fenômeno.

Este fato foi confirmado por Van Harreveld e Stamm (1953). Estes autores verificaram que, enquanto o pentobarbital não abolia a variação lenta de voltagem da DA (mesmo em doses muito altas), o éter diminuía sua amplitude ou a bloqueava, dependendo da dose utilizada.

Mais recentemente Gorelová et al. (1987) e Hernandez-Cáceres et al. (1987) demonstraram que outro anestésico, **a ketamina**, também antagoniza a DA, tanto quando administrada por via intraperitoneal como quando aplicada topicamente.

Estudos experimentais têm demonstrado que outros fatores além da anestesia podem alterar a deflagração e a propagação da DA. Por exemplo, alterações iônicas do meio interno, deficiência nutricional durante o período de desenvolvimento rápido do encefálico e privação de sono paradoxal facilitam a deflagração e a propagação do fenômeno. Por outro lado, alguns convulsivantes quando injetados em grandes doses podem deflagrar a DA, mas aplicados em doses menores, reduzem a sua velocidade de propagação quando o fenômeno é deflagrado pelo KCl ou outro tipo de estímulo. O envelhecimento das estruturas neurais também dificulta a propagação do fenômeno (GUEDES, 1984).

O Laboratório de Fisiologia da Nutrição (LAFISN) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco vem desenvolvendo uma linha de pesquisa baseada no estudo experimental dos mecanismos envolvidos no fenômeno da DA. Para tanto, os animais são anestesiados com uma **mistura de uretana + cloralose (u + c)**. Nessas condições, têm-se demonstrado alterações nas características da DA, em consequência de diversas situações experimentais que facilitam ou dificultam sua incidência e propagação (GUEDES, 1984; GUEDES et al., 1987 a, b; AMORIM et al., 1988; GUEDES et al., 1988; GUEDES et al., 1989; ANDRADE et al., 1990) .

A análise de registros da DA, anteriormente obtidos em nosso laboratório em animais anestesiados (GUEDES, comunicação pessoal) sugere que, em alguns casos, há flutuações na velocidade de propagação associadas a oscilações no nível anestésico dos animais. Entretanto não se dispõe até o momento de estudos sistemáticos sobre a velocidade de propagação da DA no animal sem anestesia.

Ochs et al. (1961), mostraram ser possível registrar a variação lenta de voltagem (VLV) no córtex cerebral de coelhos através de um conjunto de eletrodos implantados cronicamente por até duas semanas, mas não mediu a velocidade de propagação da DA.

A falta de mais estudos em animais não anestesiados provavelmente se deve ao fato de que é tecnicamente mais difícil medir a velocidade de propagação da DA em animais sem anestesia, do que fazê-la no animal anestesiado; estando acordado, o animal se movimenta, e reage a manipulação e a estimulação com KCl. A movimentação da cabeça exige que os eletrodos registradores sejam fixados (implantados) no crânio, para que a distância entre eles se mantenha constante. Um outro fato importante para o registro da VLV é que é imperativo que os

eletrodos estejam cloretados. No caso dos experimentos crônicos, a confecção dos eletrodos difere, em alguns aspectos, daquela empregada nos experimentos agudos (Vide Materiais e Métodos).

Desenvolvendo uma linha de pesquisa em DA, o LAFISN vem utilizando animais desnutridos pela usa da “**Dieta Básica Regional**” (DBR; TEODÓSIO et al., 1990). Esta dieta experimental foi elaborada com base em um inquérito de consumo alimentar realizado na Zona da Mata sul de Pernambuco em populações economicamente menos favorecidas. Na maioria das famílias inquiridas constatou-se a presença de um regime dietético deficiente e repetitivo, no qual predominam os seguintes alimentos: feijão, farinha de mandioca, escassa quantidade de carne de charque e batata doce. Evidências acumuladas indicam que a DBR prejudica o desenvolvimento funcional da SN (SILVA et al., 1987; GUEDES et al., 1987 a; ANDRADE et al., 1990).

1.1 OBJETIVOS

Por considerar de todo relevante a investigação dos possíveis efeitos que os anestésicos possam ter sobre a DA, tanto em animais normais, quanto em desnutridos, o presente trabalho tem como objetivos:

1. Investigar a influência da anestesia pela mistura Uretana+Cloralose ou pelo Thiopental sódico sobre a incidência e a propagação da DA;

2. Desenvolver uma técnica para o estudo da DA cortical, que permita a medida da sua velocidade de propagação no animal não anestesiado, possibilitando assim a comparação das características do fenômeno nas duas situações (com e sem a anestesia);
3. Comparar os efeitos dos anestésicos nas duas situações nutricionais: controle e desnutrição pela DBR.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ANIMAIS

Quarenta e cinco ratos da linhagem Wistar de ambos os sexos, pesando entre 165-230g, procedentes da colônia do Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, foram divididos em dois grandes grupos, de acordo com as dietas:

Grupo Controle (n = 25) - alimentados com dieta de manutenção da colônia ("Probiotério" - Anderson Clayton do Brasil; Tabela 1), com 23% de proteína.

Grupo DBR (n = 20) - gerados e amamentados por mães submetidas à DBR (Tabela 2), com 8% de proteína. Após o desmame (21 dias), eles continuavam a ser alimentados com a DBR até os 42 dias, quando então passavam a receber a dieta de manutenção do biotério, até a idade adulta, em que se realizavam os experimentos (90-180 dias).

2.2 ANESTÉSICOS

Foram empregados dois agentes anestésicos, sendo que um deles, o thiopental sódico (Thionembutal, Laboratório Abbott), tinha efeito anestésico mais curto que o outro - mistura de Uretana (Laboratório Riedel) + Cloralose (Merck). Cada grupo de animais foi subdividido de acordo com o anestésico utilizado:

Grupo Controle - Thionembital (TH; n = 16)

Mistura de Uretana + Cloralose (U+C; n = 9)

Grupo DBR - TH (n = 14)

U+C (n = 6)

Os ratos anestesiados com TH recebiam uma dose de 50 mg/kg - i. p. (n = 30). Os anestesiados com U+C recebiam dose de 1000mg/kg + 40 mg/kg, respectivamente (n = 15). A fim de evitar hipersecreção nas vias respiratórias e asfixia do animal foi utilizado sulfato de atropina (4mg/kg i.p.) 10 minutos antes da administração do anestésico.

2.3 DIETAS

A dieta controle (Tabela 1) continha 23% de proteínas.

A DBR (Tabela 2) é constituída qualitativa e quantitativamente dos quatro alimentos (feijão mulatinho, charque, farinha de mandioca, batata doce) mais freqüentes no cardápio da maioria da população de baixa renda e nos teores em que são consumidos na zona da mata sul de Pernambuco, conforme revelaram os inquéritos de consumo realizados pelo Laboratório de Nutrição em Saúde Pública do Departamento de Nutrição da UFPE. Esta dieta representa a principal, algumas vezes, exclusiva refeição diária das famílias inquiridas, e vem sendo utilizada como modelo experimental (TEODÓSIO et al., 1990). A sua composição centesimal é apresentada na Tabela 2.

2.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Após anestesiado, o animal tinha a cabeça fixada à base de um aparelho estereotáxico (marca “David Kopf”). Uma almofada aquecedora colocada sob o abdômen mantinha a sua temperatura retal em torno de $38 \pm 1^\circ\text{C}$. Uma incisão cirúrgica era feita na linha média do crânio. O periósteo e os planos musculares eram afastados. Trepanava-se a calota craniana obtendo-se um orifício no osso frontal e dois pequenos orifícios, separados por uma distância de 3 a 4 mm no sentido antero-posterior, ao nível da região parietal, expondo porções da superfície de um dos hemisférios cerebrais. Foram realizados dois tipos de experimentos: agudos e crônicos, a saber:

TABELA 1 - Composição* da Dieta "PROBIOTÉRIO" (Anderson Clayton do Brasil)
usada, na manutenção do biotério

COMPOSIÇÃO BÁSICA: milho, lecitina de soja, farelo de soja, concentrado proteínico de milho, farinha de carne, farinha de peixe, farelinho de trigo, farelo de arroz sol vente, farelo de milho, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, farinha de osso calcinado e sal.

ENRIQUECIMENTO POR KG DO PRODUTO:

Vitamina A.....	1.200,00 UI
Vitamina D3.....	300,00 UI
Vitamina E.....	18,00 UI
Vitamina K.....	1,40 mg
Vitamina B2.....	4,50 mg
Ácido Nicotínico.....	30,00 mg
Ácido Pantotênico	6,50 mg
Ferro.....	19,00 mg
Cabalto.....	0,10 mg
Cobre	5,00 mg
Manganês.....	40,00 mg
Zinco	80,00 mg
Iodo	0,25 mg

NÍVEIS DE GARANTIA

Umidade (max).....	12,00 %
Proteína Bruta (min)	23,00 %
Extrato Etéreo (min)	3,50 %
Matéria Fibrosa (max)	10,00 %
Matéria Mineral (max)	7,50 %
Cálcio (max)	1,40 %
Fósforo (min)	0,70 %

* Segundo Anderson Clayton do Brasil

TABELA 2 - Composição centesimal da "dieta básica regional" (DBR) usada na alimentação dos animais do grupo desnutrido (segundo TEODÓSIA e cols.,1990).

Ingredientes	g%	Composição Centesimal					
		Proteínas	Carboidratos	Lipídios	Cinzas	Fibras	Kcal%
Feijão Mulatinho ^a	18,34	3,99	10,66	0,24	0,57	1,09	60,76
Farinha de mandioca	64,81	0,84	48,59	0,12	0,43	5,64	198,80
Carne de charque ^a	3,74	2,74	-	0,06	0,06	-	11,50
Gordura (da charque)	0,35	-	-	0,35	-	-	3,15
Batata doce ^a	12,76	0,30	9,99	0,03	0,20	0,48	41,43
TOTAL	100,00	7,87	69,24	0,80	1,26	7,21	315,64

a = cozido, seco e moído.

Experimentos "Agudos"

Esse tipo de experimento vem sendo realizado há bastante tempo no Laboratório de Fisiologia da Nutrição da UFPE. Registra-se a atividade elétrica cortical (Eletrocorticograma - ECoG) e a variação lenta de voltagem (VLV) que acompanha a DA, utilizando-se eletrodos do tipo Ag-AgCl, confeccionados da seguinte maneira: em um fio de prata (3 cm de comprimento e 1 mm de diâmetro), cuidadosamente limpo e imerso em HCl 0,1 N, era depositado eletroliticamente uma camada de cloreto de prata, passando-se por ele uma corrente continua de 0,3 mA (que ia gradualmente sendo aumentada até 0,8-1,0 mA), durante 5-10 min. Dois desses fios eram introduzidos em duas pipetas cônicas de plástico medindo 5cm de comprimento, 5 mm de diâmetro na sua abertura superior e 1mm de diâmetro na ponta (abertura inferior). Essas pipetas eram cheias de solução de agar-Ringer a 0,5%, coladas uma à outra com cola de cianoacrilato e com a distância entre as suas pontas pré-estabelecida, variando entre 3 e 4 mm. As pontas das pipetas ficavam em contato com a superfície cortical de um dos hemisférios cerebrais (comumente o direito) através dos dois orifícios (3mm de diâmetro) trepanados no crânio. Um terceiro orifício (2mm de diâmetro), trepanado anteriormente aos outros dois, permitia a aplicação do estímulo para provocar a DA (KCl 2% por um minuto). Os dois eletrodos registradores eram alinhados paralelamente à direção de propagação da "frente de onda" da DA. Um terceiro eletrodo (de referência) era colocado nos ossos nasais. Fixava-se o animal à base do aparelho estereotático, registrando-se a DA por 5 horas, após o que o animal era sacrificado.

Experimentos "crônicos"

O procedimento cirúrgico foi o mesmo usado para os experimentos agudos diferenciando-se apenas quanto à implantação dos eletrodos. Três fios de prata de 20 mm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro, recobertos com tubos de polietileno (0,8 mm de diâmetro interno), tinham suas pontas cloretadas e colocadas em contato com a superfície cortical de um dos hemisférios cerebrais (usualmente o direito), nas mesmas posições descritas para os experimentos agudos, com a diferença de que os 2 orifícios para colocação dos eletrodos registradores tinham 1mm de diâmetro (e não 3 mm). A dura-máter era mantida intacta. O orifício de estimulação (2 mm de diâmetro era circundado por um anel plástico (5 mm de altura e 4 mm de diâmetro) e todo o conjunto (eletrodos e anel) era fixado ao crânio com cimento acrílico (SIMPLEX, Fig. 1). O animal era removido do aparelho estereotático e dava-se início ao registro. Ao término de cada registro, o orifício de estimulação era preenchido com óleo mineral e vedado com cera de osso ou algodão, assim permanecendo durante o intervalo de 24-48 h entre duas sessões consecutivas de registro da DA. Nesse intervalo o animal permanecia na sua gaiola.

A atividade elétrica cortical (ECoG) e a variação lenta de voltagem (VLV) da DA eram registradas simultaneamente. Durante as sessões de registro, a extremidade distal de cada eletrodo era encaixada em um pequeno conector "fêmea" soldada a fios de cobre leves, flexíveis e isolados externamente com esmalte. Estes fios eram ligados a um polígrafo "GRASS", Modelo 7-D.

Estimulação e Registro

ADA era desencadeada através de estimulação química: um cilindro de algodão (2 mm de diâmetro e 5 mm de altura) era embebido em KCl (solução a 2%) e colocado dentro do anel plástico, em contato com a superfície cortical, durante 1 minuto. A estimulação era repetida a intervalos de 20 a 30 minutos. Quando, sem o estímulo intencional, aparecia uma onda de DA (chamada de "DA espontânea") aguardava-se 20 minutos a contar do seu aparecimento para se proceder a nova estimulação com KCl.

Nos experimentos crônicos, a primeira sessão era realizada logo após a implantação dos eletrodos, com o animal ainda sob anestesia. A segunda sessão era feita no dia seguinte aproximadamente após 24 horas após o primeiro registro. A terceira era feita nos 3 a 7 dias subseqüentes, quando os animais estavam acordados. Seguia-se a última sessão (4^o a 8^o dias depois da cirurgia) na qual, após um período de registro de 2 horas, os animais recebiam a metade da dose de anestésico do 1^o dia e os registros continuados por mais 2-3 horas. A seguir eles eram perfundidos com solução salina (NaCl, 0,8%) seguida de formaldeído a 4%. Os cérebros eram removidos e examinados para controle de eventuais lesões mecânicas produzidas pelas pontas dos eletrodos. A velocidade de propagação da DA era calculada dividindo-se a distância entre os eletrodos registradores pelo tempo necessário para que a onda de DA percorresse esta distância. Na análise estatística utilizou-se o teste "t" pareado, considerando-se significantes os valores em que $P < 0,05$.

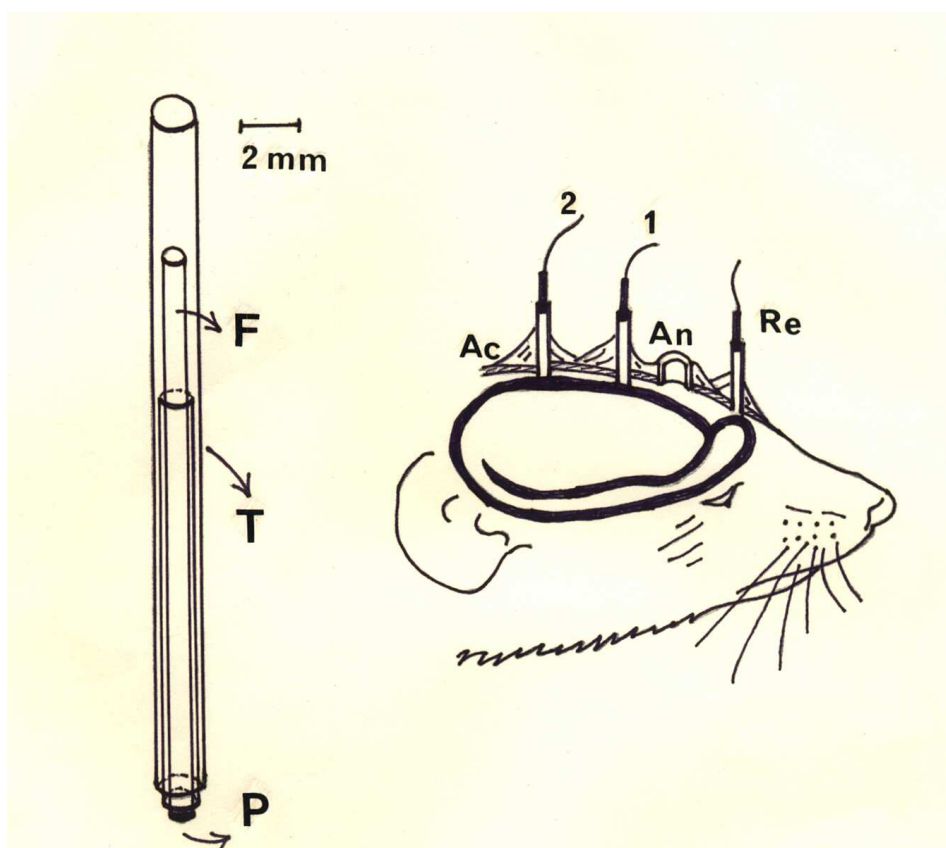


FIGURA 1 – **Esquerda:** eletrodo usado nos experimentos crônicos. O fio de prata (F) era recoberto por tubos de polietileno (T) exceto na ponta (P), que era cloretada e colocada em contato com o córtex. **Direita:** posição de implantação dos eletrodos no crânio. AC =acrílico; 1 e 2 = eletrodos registradores; Na = anel de plástico fixado em torno do orifício de estimulação; Re = eletrodo de referência.

3 RESULTADOS

3.1 PESOS CORPORAIS

Os pesos corporais eram obtidos no dia da implantação dos eletrodos. O grupo DBR apresentou pesos-corporais médios significativamente inferiores ($170,4\text{g} \pm 39,5$) àqueles do grupo controle ($200,3\text{g} \pm 29,8$). Esses resultados são apresentados na figura 2.

3.2 COMPORTAMENTO DO ANIMAL ACORDADO DURANTE A DA

Os animais eram, em geral, dóceis à manipulação. Ocasionalmente alguns reagem à aproximação do pesquisador, com tentativas de fuga. A baixa incidência de infecções (apenas 2 animais, descartados por este motivo) possibilitava a obtenção de registros estáveis durante vários dias após a implantação dos eletrodos. Logo após a estimulação pelo KCl, os animais reduzem a sua movimentação. Eventualmente observava-se movimentos mastigatórios coincidentes com o registro da DA. A aproximação de um objeto (por exemplo: uma pinça) para a estimulação tátil da hemiface, ipsilateralmente ao hemisfério estimulado com KCl, não provocava, durante a DA, respostas de posicionamento da cabeça do animal em direção ao objeto. Esta resposta, contudo, era bastante evidente quando a aproximação do objeto e a estimulação tátil eram feitas contralateralmente ao hemisfério estimulado com KCl.

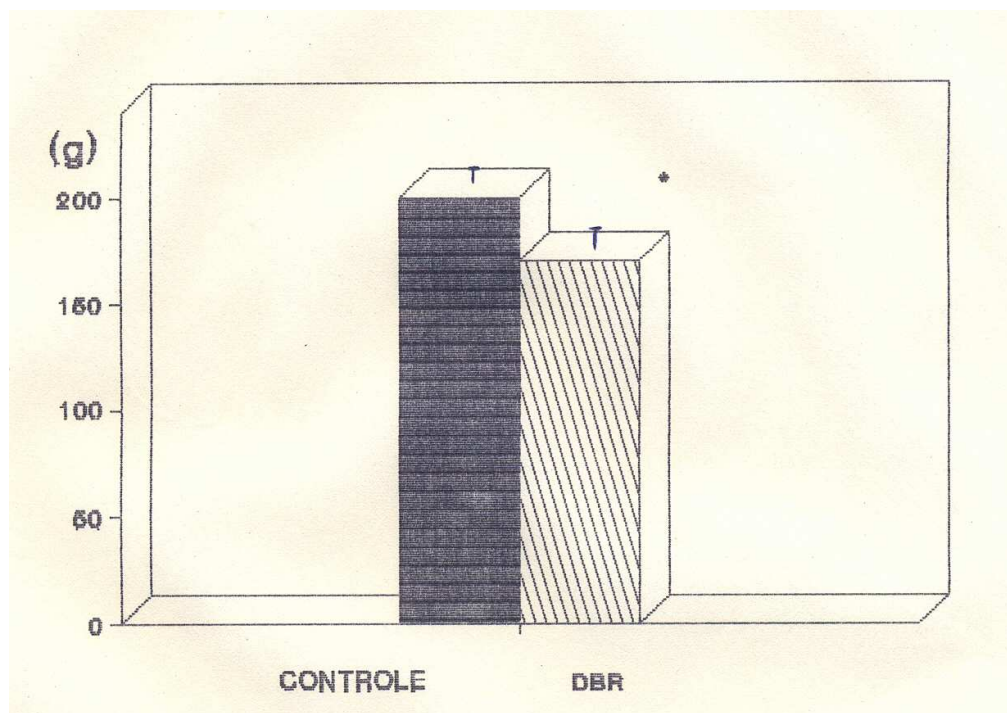


Figura 2 – Pesos corporais dos ratos controle e desnutridos pela dieta básica regional (DBR). As barras representam as médias $\pm$ erros-padrão. * = $P < 0,05$ (teste t)

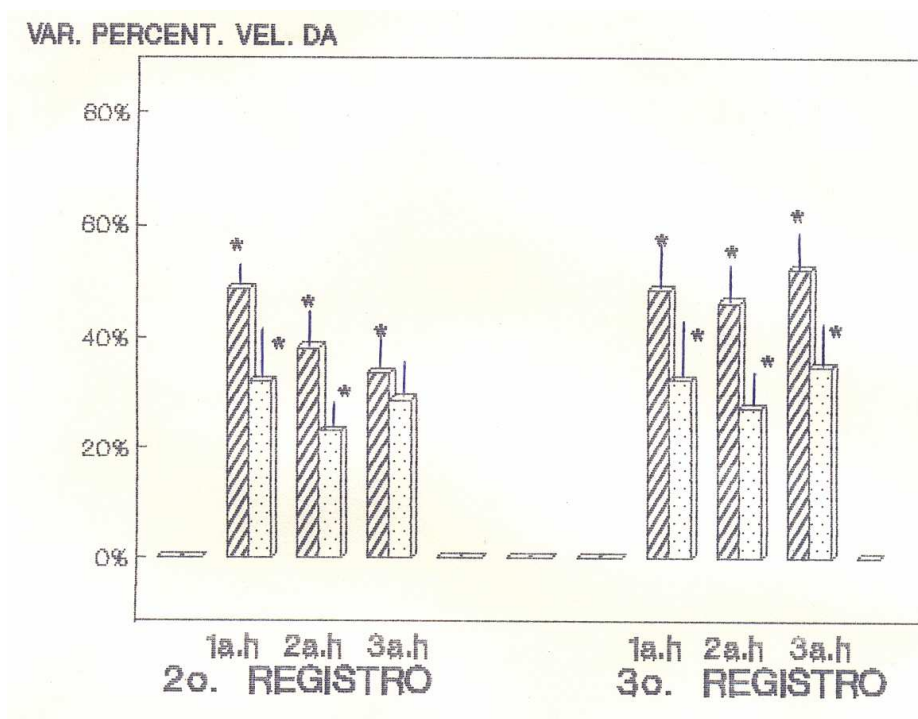


Figura 3 – Variação percentual da velocidade de propagação da DA nos animais controle (barras hachuradas) e DBR (barras pontilhadas) na condição sem anestesia (2º e 3º registros). As barras indicam os percentuais médios $\pm$ erros-padrão. * = $P < 0,05$, em relação às velocidades obtidas nos mesmos animais, quando anestesiados pelo TH (teste t pareado).

TABELA 3 - Velocidade de propagação da DA (mm/min) em ratos controle e desnutridos pela DBR, acordados (29 e 39 registros), comparadas àquelas, dos mesmos animais, sob anestesia pelo TH e pela mistura U+C. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão, por hora de registro.

	ANESTÉSICO UTILIZADO NO 1º REGISTRO					
	(TH)			(U + C)		
	1ª h	2ª h	3ª h	1ª h	2ª h	3ª h
GRUPO CONTROLE						
1º registro (anest.)	2,53	2,27	2,30	2,87	2,74	2,70
	$\pm 0,27$	$\pm 0,28$	$\pm 0,26$	$\pm 0,48$	$\pm 0,61$	$\pm 0,21$
	(5)	(4)	(4)	(6)	(5)	(2)
2º registro	3,56 ^a	3,12 ^a	3,06 ^a	2,67	2,38 ^b	2,55
	$\pm 0,11$	$\pm 0,24$	$\pm 0,29$	$\pm 0,50$	$\pm 0,63$	$\pm 0,42$
	(5)	(4)	(4)	(6)	(5)	(2)
3º registro	3,84 ^a	3,47 ^{ab}	3,38 ^a	3,23 ^a	2,73 ^b	2,34 ^b
	$\pm 0,47$	$\pm 0,24$	$\pm 0,28$	$\pm 0,37$	$\pm 0,37$	$\pm 0,64$
	(7)	(7)	(3)	(8)	(6)	(4)
GRUPO "DBR"						
1º registro (anest.)	2,70	2,55	2,36	2,50	2,56	2,58
	$\pm 0,57$	$\pm 0,46$	$\pm 0,51$	$\pm 0,31$	$\pm 0,52$	$\pm 0,58$
	(5)	(5)	(4)	(6)	(5)	(5)
2º registro	3,52 ^a	3,14 ^{ab}	3,05 ^b	3,07 ^a	2,84 ^b	2,79 ^b
	0,64	0,70	0,80	0,49	0,71	0,75
	(5)	(5)	(4)	(6)	(5)	(5)
3º registro	3,51 ^a	3,22 ^{ab}	3,15 ^{ab}	3,40 ^a	3,08 ^{ab}	3,09 ^b
	0,55	0,52	0,52	0,67	0,67	0,67
	(5)	(5)	(4)	(6)	(6)	(5)

a = P < 0,05 em relação ao valor da mesma hora, no 1º registro (sob anestesia).

b = P < 0,05 em relação ao valor do mesmo registro na 1ª hora (teste t pareado).

TABELA 4 - Velocidade de propagação da DA (mm/min) em ratos controle e desnutridos pela DBR. Neste último registro, as velocidades das três DAs obtidas após a anestesia com TH ou U+C são comparadas àquela registrada imediatamente antes do anestésico. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão, com o número de medidas entre parênteses.

ANESTÉSICO UTILIZADO NESTE ÚLTIMO REGISTRO		
	(TH)	(U+C)
GRUPO CONTROLE		
Antes do anestésico	3,41 $\pm$ 0,24 (7)	2,82 $\pm$ 0,62 (7)
Após (1ª medida)	2,96 $\pm$ 0,47* (7)	2,09 $\pm$ 1,01* (7)
(2ª medida)	2,93 $\pm$ 0,41* (7)	2,01 $\pm$ 1,01* (7)
(3ª medida)	2,99 $\pm$ 0,50* (7)	1,91 $\pm$ 0,89* (7)
GRUPO "DBR"		
Antes do anestésico	3,01 $\pm$ 0,73 (4)	2,84 $\pm$ 0,72 (6)
Após (1ª medida)	2,77 $\pm$ 0,80 (4)	2,67 $\pm$ 1,11 (6)
(2ª medida)	2,85 $\pm$ 0,85 (4)	2,60 $\pm$ 1,06 (6)
(3ª medida)	2,84 $\pm$ 0,58 (4)	2,49 $\pm$ 0,96* (6)

* = $P < 0,05$ em relação à medida antes (teste "t" pareado).

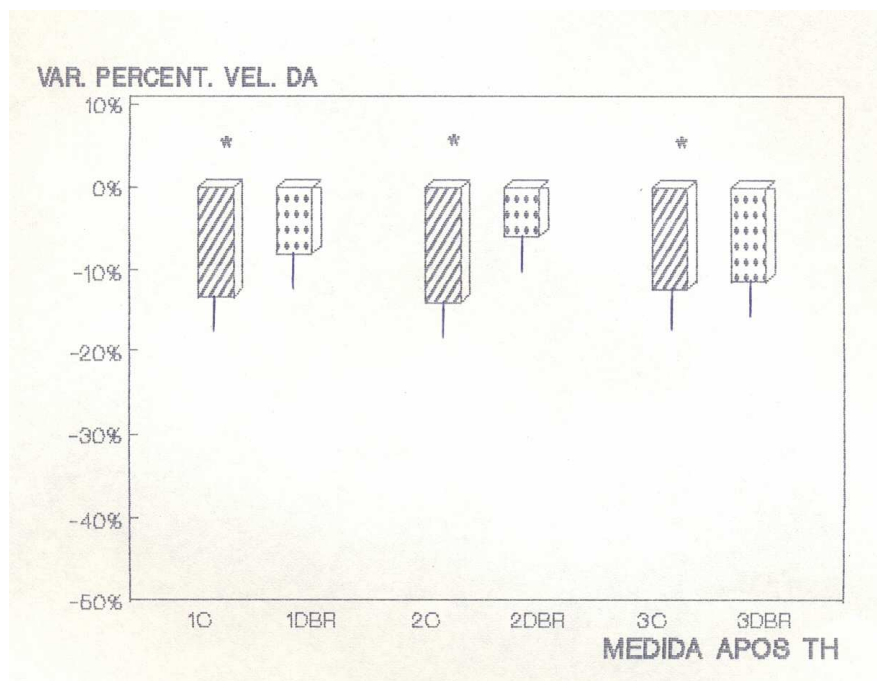


FIGURA 4 – Variação percentual da velocidade de propagação da DA nos animais controle (barras hachuradas) e DBR (barras pontilhadas), no último registro, nas três DAs obtidas após a administração de TH. As barras representam os percentuais médios $\pm$ erro-padrão. * = $P < 0,05$, em relação à velocidade medida imediatamente antes da anestesia (teste t pareado).

3.3 VELOCIDADES DE PROPAGAÇÃO DA “DA”

3.3.1 Anestesia pelo TH

A figura 3 e a Tabela 3 mostram a variação das velocidades de propagação da DA nos animais acordados (2º e 3º registros), em relação àquelas observadas, nos mesmos animais, sob anestesia (1º registro) pelo TH. As velocidades obtidas nos animais sem anestesia eram significativamente maiores do que aquelas observadas sob o efeito do anestésico. No último registro, a velocidade de propagação, após a administração do anestésico reduzia-se significativamente, quando comparada àquela obtida com o animal acordado (Tabela 4 e Figura 4).

Nos registros com o animal acordado (2^a e 3^a sessões) observou-se que, no decorrer das três horas, havia um declínio gradual da velocidade da DA, sendo as velocidades médias, na 2^a e na 3^a horas, na maioria dos casos significativamente menores, quando comparadas àquelas da 1^a hora (Tabela 3).

Nos animais desnutridos, a anestesia com o TH provocou efeitos semelhantes aos observados nos grupos controle, porém foram de menor intensidade. Na condição sem anestesia, a velocidade da DA era significativamente maior do que sob a ação do anestésico, com exceção da 3^a hora do 2^o registro (Figura 3 e Tabela 3). Na última sessão, no grupo TH/DBR, a administração do anestésico (após as duas horas iniciais de registro) provocou uma redução de 6 a 12% na velocidade da DA. Contudo, essa redução não foi significativa (Figura 4).

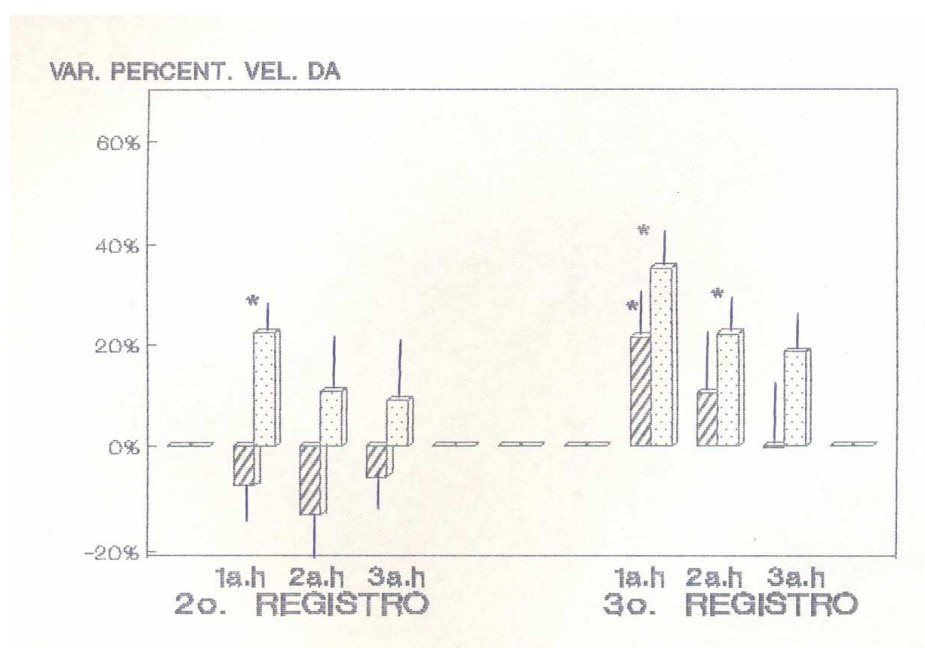


FIGURA 5 - Variação percentual da velocidade de propagação da DA nos animais controle (barras hachuradas) e DBR (barras pontilhadas), na condição sem anestesia (2^o e 3^o registros). As barras indicam os percentuais médios $\pm$ erro-padrão. * = $P < 0,05$, em relação às velocidades obtidas nos mesmos animais, quando anestesiados pela mistura U + C (teste t pareado).

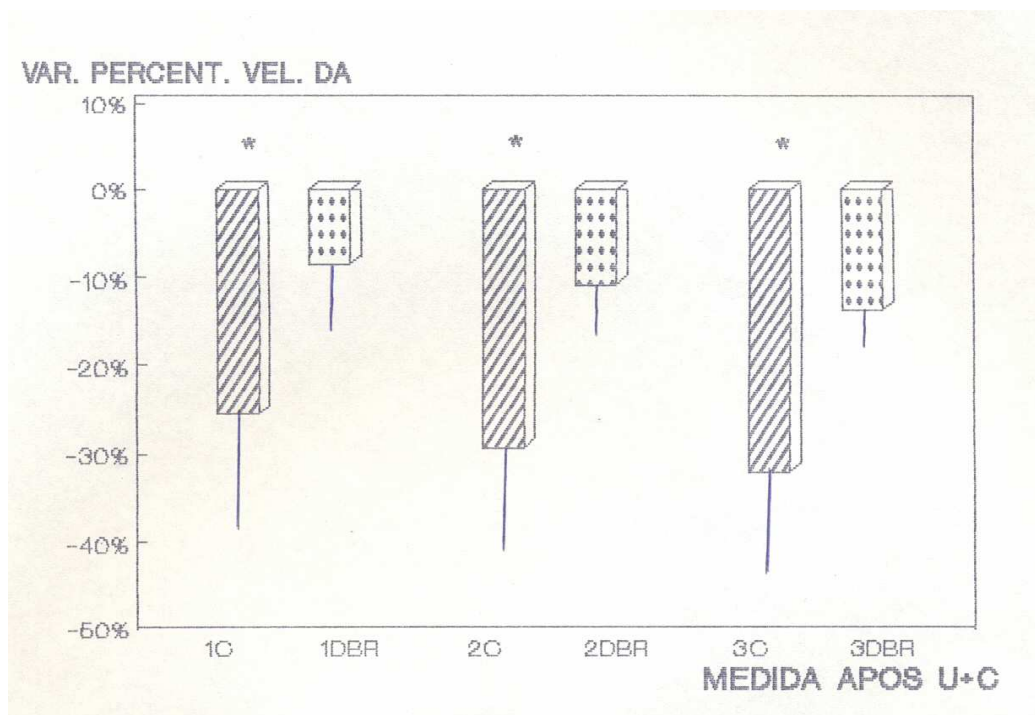


FIGURA 6 - Variação percentual da velocidade de propagação da DA nos animais controle (barras hachuradas) e DBR (barras pontilhadas), no último registro, nas três DAs obtidas após a administração de U ± C. As barras indicam os percentuais médios ± erro-padrão. * = $P < 0,05$, em relação à velocidade medida imediatamente antes da anestesia (teste t pareado).

3.3.2 Anestesia pela mistura U+C

A Figura 5 e a Tabela 3 apresentam as variações das velocidades da DA nos animais controle, anestesiados no primeiro dia com U+C. No segundo registro, as variações não foram significantes. No terceiro registro (animal acordado) houve um aumento médio significativo de 21,6%, em relação ao valor do primeiro registro (sob anestesia), na 1ª hora. Na última sessão também evidenciamos, após a administração de U+C, uma redução significativa na velocidade de propagação da DA, em relação às velocidades obtidas antes de se anestesiarem o animal (Figura 6 e Tabela 4).

No grupo DBR/U+C, as velocidades obtidas após a recuperação da anestesia inicial (2º e 3º registros) mostraram-se maiores do que aquelas do 1º registro (sob anestesia), sendo as diferenças significantes na 1ª hora do 2º registro

e na 1ª e 2ª horas do 3º registro (Figura 5 e Tabela 3). Na condição "não anestesiado" observamos, mais uma vez, que a velocidade média da 1ª hora dos registros era mais elevada do que as das horas subsequentes do mesmo dia (Tabela 3). Na última sessão, após o animal ter sido anestesiado (ao final da 2ª hora de registro), as velocidades se mostraram reduzidas em comparação com os valores obtidos antes da anestesia, sendo as diferenças significantes na 3ª medida após o anestésico (Figura 6 e Tabela 4).

A Figura 7 mostra as velocidades de propagação da DA em experimentos "agudos" (sem eletrodos implantados). Os animais foram anestesiados com TH. Os resultados obtidos com este anestésico confirmaram dados anteriores deste laboratório, com a mistura U+C (GUEDES, 1984; GUEDES et al., 1987a): os valores médios do grupo DBR, nas cinco horas de registro, são maiores do que os do grupo controle, sendo as diferenças significantes na 4ª e na 5ª horas.

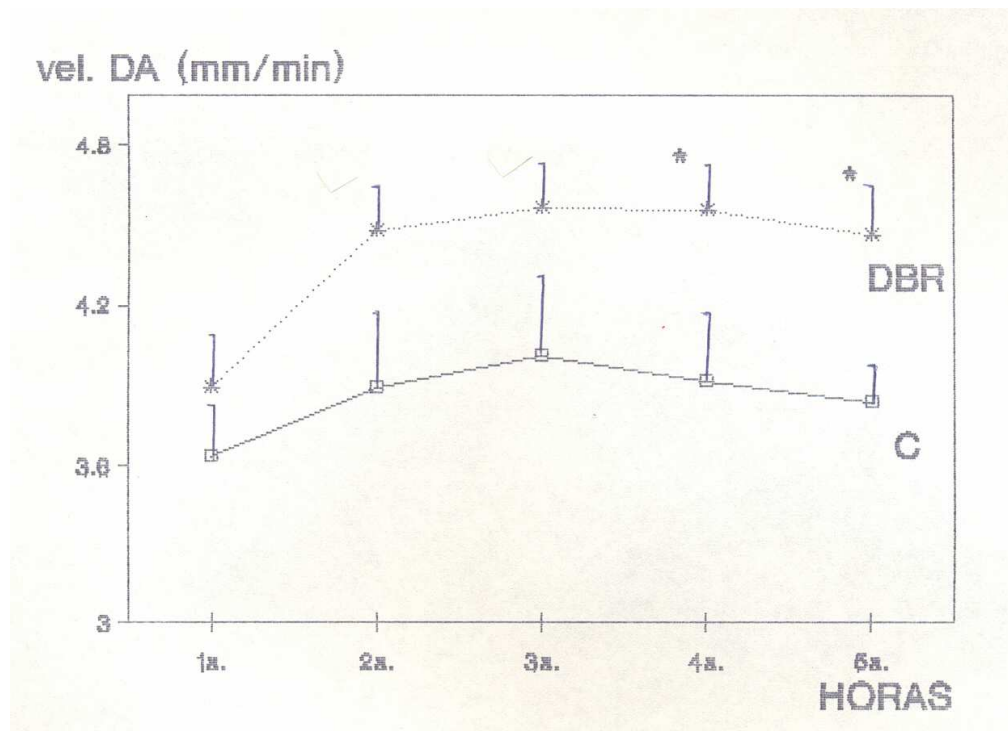


FIGURA 7 – Velocidades de propagação da DA (mm/min) em ratos controle (C) e DBR, durante a anestesia pelo TH (experimentos agudos). Cada ponto representa os valores médios $\pm$ erro-padrão nas 5 horas do registro. * = $P < 0,05$, em relação ao respectivo valor do grupo controle (teste t).

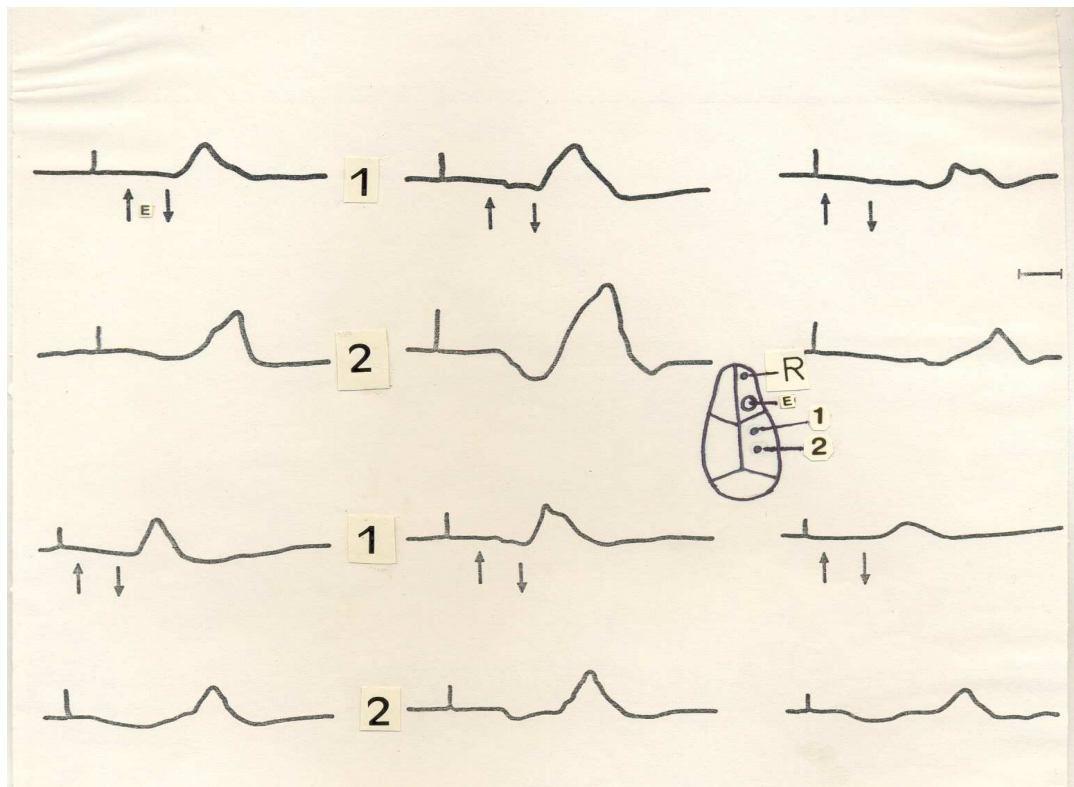


FIGURA 8 - Registro da variação lenta de voltagem da depressão alastrante (DA) em dois ratos anestesiados com a mistura uretana + cloralose (U + C) e Thionembutal (Th), respectivamente (traçados à esquerda). No centro, vê-se o registro, nos mesmos animais, dois dias após, sem anestesia. À direita, têm-se os traçados após eles terem sido novamente anestesiados, na última sessão de registro. A DA era provocada pela aplicação de KCl (2%) nos tempos delimitados pelas setas, no ponto indicado por "E" no desenho. Notam-se, na condição sem anestesia, as menores latências para a DA percorrer a distância entre os eletrodos 1 e 2 (mostrados no esquema à direita). R = eletrodo de referência. A barra horizontal equivale a 1 minuto. Sinais verticais de calibração equivalentes a -5 mv são apresentados em todos os traçados.

TABELA 5 - Número de DAs "espontâneas" (DAE) em ratos controle e desnutridos pela DER, anestesiados (1^o registro) e sem anestesia (3^o registro). Entre parênteses são mostrados o número de animais que apresentaram DAE (no numerador) e o número de animais do grupo (no denominador). As diferenças não são significantes.

GRUPOS	ANESTÉSICOS	
	TH	U+C
C (com anest.)	8 (4/7)	3 (2/9)
(sem anest.)	1 (1/6)	7 (3/8)
DER (com anest.)	7 (3/5)	10 (5/6)
(sem anest.)	6 (3/5)	4 (3/6)

3.4 INCIDÊNCIA DE DAS ESPONTÂNEAS

No decorrer do registro, ondas de DA "espontâneas" surgiam eventualmente em alguns dos animais de cada um dos quatro grupos estudados cronicamente. A Tabela 5 mostra a incidência dessas ondas nos animais estudados com e sem anestesia (1^o e 3^o registros), durante duas horas. Os dois grupos DBR (U+C, n = 6 e TH, n = 5) apresentaram incidências maiores de DAs "espontâneas" do que os seus respectivos controles (U+C, n = 9 e TH, n = 7), embora as diferenças não tenham sido significantes. Também não foram observadas diferenças significantes que pudessem ser atribuídas aos anestésicos.

3.5 AMPLITUDE E DURAÇÃO DA VLV DA DA

A duração e a amplitude da VLV foram analisadas nos quatro grupos estudados cronicamente. Com relação à amplitude, havia uma tendência à sua redução nos animais anestesiados, em relação àquelas observadas nos registros sem anestesia. No último registro, as diferenças só foram significantes nos grupos controle anestesiados com TH, na 1ª medida após a anestesia. No que se refere à duração, houve aumento significativo apenas no grupo TH controle.

3.6 TEMPO DE RECUPERAÇÃO DO ECoG

A atividade eletrocorticográfica, depois de ter sido reduzida pela DA, levava um certo tempo para apresentar sinais de recuperação. Este tempo foi medido na 1ª e na 2ª horas do 1º e do último registro.

Neste último comparou-se também o tempo de recuperação, nas três medidas após a anestesia, com aquele obtido imediatamente antes. Não foram observadas diferenças significantes em qualquer dos grupos estudados. Análise Histológica A histologia revelou que 13.17% dos cérebros examinados não apresentava qualquer sinal de lesão; em 57.89% dos casos, as lesões encontravam-se entre 250-500 μm e nos 28.93% restantes elas eram superiores a 500 μm . A extensão horizontal das lesões limitava-se ao diâmetro do eletrodo.

4 DISCUSSÃO

A técnica desenvolvida neste trabalho, para o registro da DA em animais não-anestesiados, mostrou-se apropriada para a quantificação da sua velocidade de propagação. Por esta razão, acredita-se que ela será útil em estudos posteriores nos quais se necessite registrar o fenômeno em animais acordados.

A possibilidade de se registrar a DA em animais acordados foi demonstrada por vários autores nos anos 50-60 (vide BURES et al, 1974, pg. 219).

Bures (1954), registrou a atividade elétrica cortical e a VLV que acompanha a DA em animais acordados e comparou esses registros àqueles de outros animais anestesiados pelo Dial, concluindo não haver grandes variações entre os 2 grupos, no que se refere à velocidade de propagação. Ochs et al (1961) utilizando um "soquete" com vários eletrodos, implantados cronicamente, demonstraram no coelho, ser possível registrar a DA na ausência de anestesia. Van Harreveld et al. (1956) registraram o fenômeno em gatos, coelhos e macacos, utilizando eletrodos implantados.

Os estudos acima comentados tiveram por finalidade demonstrar que a anestesia e a exposição cortical não eram condições necessárias para o aparecimento da DA. Contudo, naqueles trabalhos não foram estudadas, de maneira sistemática, possíveis alterações na propagação. A diferença entre os resultados de Bures (1954) e os do presente trabalho quanto à velocidade de propagação da DA poderiam ser explicadas por alguns fatores, tais como: 1º a comparação de grupos de ratos diferentes nas duas condições (com e sem anestesia); 2º à medida da latência entre o ponto de estímulo e o 1º ponto de registro feito naquele trabalho, enquanto neste, a latência para o cálculo da

velocidade foi medida entre os dois eletrodos registradores; 3º Bures (1954) deflagrava a DA com estimulação elétrica, enquanto neste trabalho foi utilizado o KCl. Este último procedimento restringe a possibilidade de surgimento da DA "à distância" do local estimulado. Além disso, a comparação das tabelas 1 e 2 do artigo de Bures (1954) mostra que os valores médios da velocidade de propagação da DA são maiores no grupo não-anestesiado, embora a diferença para o grupo sob anestesia não seja significativa. Isto revela uma tendência na mesma direção das diferenças significantes demonstradas no presente trabalho.

Outro fato que deve ser aqui comentado refere-se ao controle histológico do córtex dos animais que receberam implantação de eletrodos. Ochs et al (1961) encontraram espessamento da pia-máter e atrofia, por compressão, das partes mais superiores da camada molecular, na região cortical sob os eletrodos, o que, no entanto, não impediu o registro da VLV durante a DA.

Neste trabalho, a histologia revelou que em mais da metade dos casos ou não havia lesões (13,17%), ou elas estavam restritas às camadas corticais mais superiores (57,90%). Apenas em 28,93% dos casos as lesões foram mais profundas, embora sempre punctiformes. Isto não pareceu ter comprometido a propagação, uma vez que não se observaram alterações irreversíveis de velocidade nos vários dias de registro.

Uma dificuldade encontrada com o presente sistema de eletrodos crônicos foi a impossibilidade de alterar a posição dos mesmos após a implantação. Uma vez fixados com acrílico, é praticamente impossível a sua troca. Por isso, é importante realizar uma cloretagem cuidadosa para se ter, com êxito, registros da VLV em dias sucessivos. Quatro animais, nos quais os registros estavam irreversivelmente comprometidos, quer por lesões corticais muito grandes ou por mudanças nas

propriedades de polarização dos eletrodos (descloretagem precoce), foram excluídos do estudo.

Outro fato que dificultava o registro, no animal acordado, era a sua movimentação excessiva. Isto podia aumentar a incidência de artefatos no registro, se os contactos entre os conectores e os eletrodos não estivessem firmes.

A análise dos resultados obtidos nos ratos desnutridos confirmou o fato já conhecido de que animais submetidos à restrição nutricional no chamado "período crítico ou vulnerável" do sistema nervoso (DOBBING, 1968) apresenta um retardo no desenvolvimento do corpo, que persiste na idade adulta, a julgar pelas diferenças nos pesos corporais entre o Grupo Controle e o DBR.

A utilização da DBR como modelo experimental de desnutrição reveste-se de importância por se tratar de uma dieta utilizada por populações humanas do nordeste brasileiro. Os dados experimentais obtidos com essa dieta podem se constituir em contribuição valiosa para o estudo dos efeitos da desnutrição prevalente em nosso meio, sobre o sistema nervoso. (TEODÓSIO et al, 1990; GUEDES et al, 1987 a; ANDRADE et al, 1990).

As velocidades da DA nos ratos desnutridos e anestesiados, quando comparados àquelas dos mesmos animais sem anestesia, revelam diferenças qualitativamente na mesma direção, porém menos evidentes. Isto sugere que o tecido cortical dos animais desnutridos reagiria com menor intensidade à ação dos anestésicos. Contudo, deve-se considerar que o número de animais desnutridos do presente estudo foi relativamente pequeno e portanto, a comprovação dessa tendência exigirá a repetição desses experimentos, no futuro, em um número maior de animais.

A primeira observação de que anestésicos podiam interferir com a DA foi feita por Leão (1944). Ele notou, em animais anestesiados pelo éter, que o fenômeno só se propagava quando os níveis de anestésicos eram superficiais, fato esse posteriormente confirmado por Van Harreveld e Stamm, (1953).

Após este estudo passaram-se quase 3 décadas sem que nenhuma informação sobre o tema tenha surgido na literatura. Mais recentemente o assunto voltou a despertar o interesse de outros autores, os quais demonstraram que o anestésico Ketamina também antagoniza a DA (GORELOVA et al., 1987; HERNÁNDES CÁCERES et al., 1987).

Com referência à DA, o principal achado do presente estudo é que a anestesia pela mistura uretana/cloralose ou pelo thionembutal afeta a sua propagação, reduzindo-a. Este efeito no grupo U+C só desaparecia 1 a 2 dias mais tarde do que nos animais do Grupo TH.

Notamos também que, nos animais acordados, as primeiras medidas de velocidade da DA eram sempre maiores do que as demais medidas do mesmo dia do registro, as quais declinavam ao longo do tempo. Este fato sugere a possibilidade de um "efeito de adaptação". No primeiro estímulo, o córtex, por se encontrar "em repouso", respondia com o máximo de eficiência. Após vários estímulos a velocidade de propagação apresentava-se reduzida em relação às primeiras. Este novo valor da velocidade da DA mantinha-se baixo até o final do registro. Um mecanismo baseado no acúmulo, no meio extra-celular, de substâncias que dificultassem a propagação da DA, (MARTINS-FERREIRA et al., 1974b), poderia explicar essa redução da sua velocidade ao longo do tempo. Outra possibilidade refere-se ao tempo necessário para o tecido cortical se recuperar após a DA. O intervalo de 20 minutos é normalmente considerado como suficiente para isso (LEIO, 1972;

GUEDES E DO CARMO, 1980). Neste trabalho, foi utilizado intervalo de 20 a 30 minutos entre 2 estímulos sucessivos. Não podemos descartar a hipótese de que, no animal acordado, esse intervalo tivesse que ser maior (não foram testados intervalos superiores a 30 minutos). Esse aspecto é discutido por Martins-Ferreira et al (1974a) na preparação de retina isolada com "pista circular" na qual a DA se propagava ininterruptamente durante várias horas. Nas preparações agudas (animais anestesiados) não observamos tais efeitos. É possível que os processos que levam a essa "adaptação" estejam minimizados por ação dos anestésicos.

A incidência de DAs "espontâneas" parece não estar ligada ao anestésico utilizado e sim ao estado nutricional do animal, considerando que elas tendiam a ser numericamente mais frequentes no Grupo DBR do que no Controle. Contudo temos que considerar o fato de que o orifício de estimulação, por ser um "pequeno poço", eventualmente retinha resíduos de KCl, o que provavelmente favorecia o surgimento de DAs "espontâneas". Isso poderia dificultar a observação de diferenças nas incidências destas DAs, causadas pelos dois anestésicos. Procuramos minimizar tais efeitos, aplicando, após a retirada do estímulo (KCl), um algodão embebido em Ringer e em seguida o orifício era seco com algodão, visando diluir os possíveis resíduos de KCl. Apesar disto, nas condições do presente trabalho, não podemos excluir a possibilidade de que um dos anestésicos favoreça a incidência de DAs "espontâneas".

A VLV também sofreu interferência dos anestésicos tendendo sua amplitude a se reduzir e sua duração a aumentar em relação àquelas observadas no animal acordado. Este fato poderia estar relacionado ao efeito dos anestésicos sobre os elementos celulares do tecido neural, seja nos seus aspectos estruturais (BROCKERHOFF et al, 1990; AKESON e DEAMER, 1991), eletrofisiológicos

(VELISKOVÁ et al, 1990; ENGSTROM et al, 1990; GEAN e CHANG, 1991) ou farmacológicos (FRANDSEN et al, 1990; BHARDWAJ et al, 1990; DANIELL, 1990; IDA et al, 1990; DURAND et al, 1991).

Inúmeros mecanismos têm sido sugeridos para explicar o efeito dos anestésicos sobre as funções neurais. Dentre eles, a atenuação na liberação de neurotransmissores causada por anestésicos (BHARDWAJ, et al 1990; IDA, et al 1990), reveste-se de importância para o presente trabalho. Embora mecanismos sinápticos pareçam não ser indispensáveis para o surgimento da DA, (SUGAYA et al, 1975) variações na liberação de neurotransmissores poderiam influir na propagação do fenômeno.

Outro fato a ser considerado é que anestésicos como o halotano e o éter podem ser potencializados por antagonistas do N-Metil-D-Aspartato (NMDA) (DANIELL, 1990).

Hernandez-Cáceres et al, (1987) fazem referência ao fato de que os anestésicos dissociativos fenciclidina e Ketamina exerciam seus efeitos, pelo menos em parte, através do bloqueio da transmissão mediada por aminoácidos excitatórios. Esses autores demonstraram também que a Ketamina bloqueia a DA. Gorelova et al, (1987) discutem a possibilidade de que o bloqueio da DA pela Ketamina seja devido a um efeito sobre a homeostase iônica do cérebro, impedindo o aumento autoregenerativo do potássio extra-celular, nos agregados celulares.

Existem evidências que mostram que alterações na atividade desses neurotransmissores interferem com a DA (GUEDES, 1988; HANSEN et al, 1988). No entanto experimentos realizados por Do Carmo e Leão (1972) demonstraram que ao se aplicar cuidadosamente o glutamato na superfície cortical de coelhos, este não deflagra a DA. Contudo, havendo qualquer estimulação mecânica associada, esta é

deflagrada. Assim estes autores são cuidadosos ao afirmar que o glutamato poderia facilitar o surgimento da DA, mas não seria o seu mediador mais importante.

O presente trabalho demonstra claramente a influência dos anestésicos U+C e TH sobre a propagação da DA. Isto poderia se atribuído especificamente à ação daqueles anestésicos sobre sistemas de neurotransmissores, como os aminoácidos excitatórios, ou a uma ação mais inespecífica sobre os processos gerais envolvidos na eletrogênese do córtex cerebral. Ao demonstrar a existência de efeitos do TH e da U+C sobre a DA, o nosso trabalho estimula a realização de novos experimentos, objetivando compreender melhor os mecanismos envolvidos.

Foi demonstrado também neste estudo, que a mistura U+C e o TH não agem exatamente do mesmo modo sobre a DA. Diferenças entre a ação da uretana e dos barbitúricos foram recentemente descritas por Engstrom et al (1990), no hipocampo, "in vivo". Nessa preparação, a uretana dificultava a obtenção de "bursts" de atividade, decorrentes de estimulação elétrica repetitiva, em comparação com o pentobarbital. Esses autores ao discutirem os possíveis mecanismos para explicar as diferenças encontradas, chamam a atenção para quatro fatores, que julgamos pertinentes comentar aqui: 1. a uretana diminui a liberação de glutamato, pelo tecido cerebral, ao contrário dos barbitúricos; 2. os barbitúricos atuam no aumento da inibição dependente de cloreto, mediada por receptores do tipo GABA_A, ao passo que a uretana tem pouco efeito sobre este processo; 3. a uretana produz uma elevação dos níveis séricos de corticosterona, maior do que aquela produzida pelo pentobarbital (essa elevação poderia interferir com a excitabilidade cerebral); 4. a uretana é estruturalmente semelhante à fisostigmina, um inibidor da acetilcolinesterase, e os barbitúricos não têm tal atividade (ENGSTROM et al, 1990).

Estudos posteriores deverão esclarecer se alguns desses mecanismos também participam dos efeitos dos anestésicos sobre a propagação da DA.

REFERÊNCIAS

AMORIM, L. F.; GUEDES, R. C. A.; MEDEIROS, M. C.; SILVA, A. T.; CABRAL FILHO, J. E. (1988). Aphomorphine does not mimic the effects of REM sleep deprivation on cortical spreading depression. **Braz J. Med. Biol. Res.**; n. 21, p. 611-614.

ANDRADE, A. F. D.; GUEDES, R. C. A.; TEODÓSIO, N. R. (1990). Enhanced rate of cortical spreading depression due to malnutrition: prevention by dietary protein supplementations. **Braz J. Med. Biol. Res.**; n. 23, p. 889-893.

AKESON, M.; DEAMER, D.W. (1991). Anesthetics and membranes: A critical review. In: Advances in membrane fluidity V. R. C. ALOIA, C. C. CURTAIN.; L.M. GORDON, (Eds.) Drug and anesthetic effects on membrane structure and function, p. 71-89, Wiley-Liss, London.

ARAKI, T.; KATO, H.; KOGURE, K.; INOUE, T. Regional neuro-protective effects of pentobarbital on ischemia-induced brain damage. **Brain Res. Bulletin**, n. 25, 1990, p. 861-865.

BHARDWAJ, A.; BRANNAN, T.; WEINBERGER, J. Pentobarbital inhibits extracellular release of dopamine in the ischemic striatum. **J. Neural Transm. (gen. sect)**, n. 82, 1990, 111-117.

BROCKERHOFF, H.; ZINGONI, J.; BROCKERHOFF, S. Mechanism of anesthetics may restructure the hydrogen belts of membranes. **Neurochem. Int.**; n. 17, 1990, p. 15-19.

BURES, J. Direct potential difference between the cerebral hemispheres during the depression of EEG activity in anaesthetised and non-anaesthetised rats. **Physiol. Bohemosl.**; n. III, 1954, p. 288-295.

BURES, J.; BURESOVÁ, o.; KRIVÁNEK, J. **The mechanism and application of Leão spreading depression of electroencephalographic activity.** Academia, Prague, 1974.

CAIN, D.F.; RATHBY, A.; CORCORAN, M.E. Urethane anesthesia blocks the development and expression of kindled seizures. **Life Sci.**; n. 44, 1989, p. 1201-1206.

DANIELL, L.C. The noncompetitive N - Metil – D - Aspartate antagonists, MK0801, Phencyclidine and ketamine, increase the potency of general anesthetics. **Pharmacol. Biochem. Behav.**; n. 36, 1990, p. 111-115.

DOBBING, J. Vulnerable periods in developing brain. In: Davison, A. N. ; Dobbing, J. (Eds.). **Applied Neurochemistry**. Oxford, Blackwell, 1968, p. 287-316

DO CARMO, R. J.; LEÃO, A. A. P. On the relation of glutamic acid and some allied compounds to cortical spreading depression. **Brain Res.**; n. 39, 1972, p. 515-518.

DO CARMO, R. J.; MARTINS-FERREIRA, H. Spreading depression of Leão probed with ion-selective microelectrodes in isolated chick retins. **An. Acad. Brasil. Ciênc.** n. 56, 1984, p. 402-421.

DURAND, P.G.; LEHOT, J.J.; FOEX, P. Calcium-channel blockers and anesthesia. **Can. J. Anesth.**; n. 38, 1991, p. 75-89.

ENGSTROM, D. A.; BENNETT, M. C.; STÉVENS, K. E.; WILSON, R.L.; DIAMOND, D. M.; FLESHNER, M.; ROSE, G. M. Modulation of hippocampal primed burst potentiation by anesthesia. **Brain. Res.**; n. 521, 1990, p. 148-152.

FIFKOVÁ, E.; BURES, J.; KOSHTOYANTS, O. K.; KRIVÁNEK, J.; WEISS, T. Leão s spreading depression in the cerebellum of the rat. *Experientia*. n. 17, 1961, p. 572-573.

FRANDSEN, A.; QUISTORFF, B.; SCHOUSBOE, A. Phenobarbital protects cerebral cortex neurones against toxicity induced by kainate but not by other excitatory amino acids. **Neurosci. Letters**; n. 111, 1990, p. 233-238.

GEAN, P-W.; CHANG, F-C. Ketamine suppresses synchronized discharges in the disinhibited amygdala slice. **Brain. Res. Bulletin**. n. 26, 1991, p. 923-927.

GILMAN, A. G.; GOODMAN, L. S.; RALL, T. W.; MURAD, F. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 7ed.; Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1987.

GJEDDE, A.; HANSEN, A.J.; QUISTORFF, B. Blood-brain glucose transfer in spreading depression. **J. Neurochem.** n. 37, 1981, p. 807-812.

GORELOVA, N.A.; KOROLEVA, V. I.; AMEMORI, T.; PAVLÍK, V.; BURES, J. Ketamine blockade of cortical spreading depression in rats. **Electroencephal and Clin. Neurophysiol.**; n. 66, 1987, p. 440-447.

GOURAS, P. Spreading depression of activity in amphibian retina. **Am. J. Physiol.**; n. 195, 1958, 28-32.

GRAFSTEIN, B. B. Mechanism of spreading cortical depression. **J. Neurophysiol.**; n. 19, 1956, p. 154-171.

GUEDES, R. C. A. On some conditions that influence cortical spreading depression. **An. Acad. Brasil. Ciênc.**, n. 56, 1984, p. 445-455.

GUEDES, R. C. A.; DO CARMO, R.J. Influence of ionic alterations produced by gastric waging on cortical spreading depression. **Exp. Brain. Res.**; n. 39, 1980, p. 341-349.

GUEDES, R.C.A.; ANDRADE, A. F. D.; CABRAL-FILHO, J. E. Propagation of cortical spreading depression in malnourished rats: facilitatory effect of dietary protein deficiency. **Braz. J. Med. Biol. Res.**; n. 20, 1987a, p. 639-642.

GUEDES, R. C. A.; AZEREDO, F. A. M.; HICKS, T. P.; CLARKE, R. J.; TASHI, R. O, T. Opioid mechanisms involved in the slow potential change and neuronal refractoriness during cortical spreading depression. **Exp. Brain Res.**; n. 69, 1987b, p. 113-118.

GUEDES, R. C. A.; ANDRADE, A. F. D.; CAVALHEIRO, E. A. Excitatory amino acids and cortical spreading depression. In: CAVALHEIRO, E. A.; LEHMAN, J; TURSKI, L. (Eds.) **Frontiers in Excitatory Amino**, 1988, p. 667-670, N. York : Alan R. Liss.

GUEDES, R.C.A.; AMORIM, L. F.; MEDEIROS, M. C.; SILVA, A. T.; TEODÓSIO, N.R. Effect of dietary lithium on cortical spreading depression. **Braz. J. Med. Biol. Res.**; n. 22, 1989, 923-925.

HALL, L. N.; CLARKE, K. W. **Anestesia veterinária**. 8. ed., (cap. 15). São Paulo, Manole, 1987.

HANSEN, A.J.; LAURITZEN, M.; WIELOCH, T. NMDA antagonists inhibit cortical spreading depression, but not anoxic depolarization. In: CAVALHEIRO, E. A.; LEHMAN, J; TURSKI, L. (Eds.) **Frontiers in excitatory amino acid research**, N. York: Alan R. Liss, 1988, p. 661-666.

HERNÁNDEZ-CÁCERES, J.; MACIAS-GONZÁLEZ, R.; BROZÉK, G.; BURES, J. Systemic ketamine blocks cortical spreading depression but does not delay the onset of terminal anoxic depolarization in rats. **Brain. Res.**; n. 437, 1987, p. 360-364.

IDA, V.; TSUDA, A.; TSUJIMARU, S.; SATOH, M.; TANAKA, M. Pentobarbital attenuates stress-induced increases in noradrenaline release in specific brain regions of rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**; n. 36, 1990, p. 953-956.

LAURITZEN, M.; RICE, M. E.; OKADA, V.; NICHOLSON, C. Quisqualate, Kainate and NMDA can initiate spreading depression in the turtle cerebellum. **Brain. Res.**; n. 475, 1988, p. 117-327.

LEÃO, A. A. P. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. **M. Neurophysiol.**; n. 7, 1944, p. 359-390.

LEÃO, A. A. P. Spreading depression. In: PURPURA, D. P.; PENRY, K.; TOWER, D. B.; WOODBURY, D. M.; WALTER, R. D. (Eds.) **Experimental Models of Epilepsy**. N. York: Raven Press, 1972, p.173-195.

LEÃO, A. A. P.; MARTINS-FERREIRA, H. (1961). Nota acerca da depressão alastrante no cerebelo, tubérculo quadrigêmeo anterior e bulbo olfativo. **An. Acad. Brasil. Ciênc.**; n. 33, p. XXXIX-XL.

MARSHALL, W.H. Spreading cortical depression of Leão. **Physiol. Rev.**; n. 39, 1959, 239-279.

MARTINS-FERREIRA, H.; OLIVEIRA-CASTRO, G.; STRUCHINER, C. J.; RODRIGUES, P. S. Circling spreading depression in isolated chick retina. **J. Neurophysiol.**; n. 37, 1974a, p. 773-784.

MARTINS-FERREIRA, H.; OLIVEIRA-CASTRO, G.; STRUCHINER, C. J.; RODRIGUES, P. S. Liberation of chemical factors during Spreading Depression in isolated retina. **J. Neurophysiol.**; n. 37, 1974b, p. 785-791.

MARTINS-FERREIRA, H.; DO CARMO, R. J. Retinal spreading depression and the extra-cellular milieu. **Canad. J. Physiol. Pharmacol.**; n. 65, 1987, p. 1092-1098.

MILLAR, T. J.; VAEGAN; ARORA, A. Urethane as a sole general anaesthetic in cats used for electroretinogram studies. **Neurosci. Letters.**; n. 103, 1989, p. 108-112.

NICOLL, R.A. The effects of anesthetics on synaptic excitation and inhibition in the olfactory bulb. **J. Physiol.**; n. 233, 1972, p. 803-814.

OCHS, S.; HUNT, K.; BOOKER, H. Spreading depression using chronically implanted electrodes. **Am. J. Physiol.**; n. 200, 1961, p. 1211-1214.

OLIVEIRA-CASTRO, G.; MARTINS-FERREIRA, H. Deformations and thickness variations accompanying spreading depression in the retina. **J. Neurophysiol.**; n. 33, 1970, p. 891-900.

REFINETTI, R.; CARLISLE, H. J. Thermoregulation during pentobarbital and ketamine anesthesia in rats. **J. Physiol.**; (**Paris**), n. 83, 1988-1989, p. 300-303.

SAGE, J. I.; DUFFY, T. E. Pentobarbital anesthesia: influence on amine acid transport across the blood-brain barrier. **Journal of neurochemistry**, n. 33, 1979, p. 963-965.

SILVA, A.T.; COSTA, F.B.R.; COSTA, J.A.; TEODÓSIO, N.R.; CABRAL FILHO, J.E.; GUEDES, R.C.A. Sciatic nerve conduction velocity of malnourished rats fed the human "basic regional diet" of the northeast of Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, n. 20, 1987, p. 383-392.

SUGAVA, E.; TAKATO, M.; NODA, Y.; Neuronal and glial activity during spreading depression in cerebral cortex of cat. **J. Neurophysiol.** n. 38, 1975, p. 822-841.

TEODÓSIO, N. R.; LAGO, E. S.; ROMANI, S. A. M.; GUEDES, R. C. A. A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Arch. Latino Am. Nutri.**, n. 40, 1990, p. 533-547.

VAN HARREVELD, A.; STAMM, J. S. Effect of pentobarbital and ether on the spreading cortical depression. **Am. J. Physiol.**, n. 173, 1953, p. 164-170.

VAN HARREVEOLD, A.; STAMM, J. S.; CHRISTENSEN, E. Spreading depression in rabbit, cats and monkeys. **Am. J. Physiol.**, n. 184, 1956, p. 312-320.

VELISKOVÁ, J.; VELISÉK, L.; MARÉS, P.; ROKYTA, R. Ketamine suppresses bath bicuculline and picrotoxin-induced generalized tonic-clonic seizures during ontogenesis. **Pharmacol. Biochem & Behav.**, n. 37, 1990, p. 667-674.