

**ANA VIRGÍNIA DE OLIVEIRA PINTO**

**PAPEL INIBIDOR DAS INFLUÊNCIAS CORTICAIS CONTRALATERAIS SOBRE  
A DEPRESSÃO ALASTRANTE, EM RATOS ADULTOS BEM-NUTRIDOS E  
PRECOCEMENTE DESNUTRIDOS**

**RECIFE-PE**

**2006**

**ANA VIRGÍNIA DE OLIVEIRA PINTO**

**PAPEL INIBIDOR DAS INFLUÊNCIAS CORTICAIS CONTRALATERAIS SOBRE  
A DEPRESSÃO ALASTRANTE, EM RATOS ADULTOS BEM-NUTRIDOS E  
PRECOCEMENTE DESNUTRIDOS**

**Dissertação apresentada ao Departamento  
de Fisiologia e Farmacologia do Centro de  
Ciências Biológicas da Universidade Federal  
de Pernambuco, como um dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre.**

**ORIENTADOR: RUBEM CARLOS ARAÚJO GUEDES**

**PROF. TITULAR DO DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**RECIFE-PE**

**2006**

**Pinto, Ana Virgínia de Oliveira**

**Papel inibidor da influências corticais contralaterais sobre a depressão alastrante, em ratos adultos bem-nutridos e precocemente desnutridos / Ana Virgínia de Oliveira Pinto. – Recife: O Autor, 2006.**

**85 folhas : il., fig., tabs.**

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Ciências Biológicas. Fisiologia, 2006.

**Inclui bibliografia e anexo.**

1. Neurofisiologia – Influência cortical contralateral 2 Depressão alastrante – Ratos 3. Corpo caloso I. Título.

**612.8**  
612.8

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

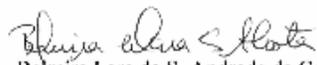
**UFPE**  
CCB – 2006 – 053

**PAPEL INIBIDOR DAS INFLUÊNCIAS CORTICAIS CONTRALATERAIS SOBRE  
A DEPRESSÃO ALASTRANTE, EM RATOS ADULTOS BEM-NUTRIDOS E  
PRECOCEMENTE DESNUTRIDOS**

**ANA VIRGÍNIA DE OLIVEIRA PINTO**

**Data de Aprovação da Dissertação: 09/ 08/ 2006**

**Membros da Banca Examinadora:**

  
Belmira Lara da S. Andrade da Costa

  
Cristovam Wanderley Picanço Diniz

  
Marcelo Moraes Valença

**Recife, 2006.**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (LAFINNT) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco sob a orientação do professor Rubem Carlos Araújo Guedes e contou com o apoio financeiro da CAPES.

*Aos Meus Pais: Valmir e Lúcia*

Seu amor, paciência e dedicação

Me consolaram, confortaram e incentivaram

Nos momentos mais difíceis, não permitindo

Por nenhum momento

Que eu fraquejasse

Ou desistisse de seguir em frente.

À eles, dedico toda conquista por mim alcançada.

## AGRADECIMENTOS

No decorrer destes anos no Recife, com o objetivo de alcançar mais um sonho, tive várias pessoas empenhadas para que eu tivesse esta cidade como novo lar e o laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio minha nova casa. À estas pessoas gostaria de agradecer e compartilhar mais uma conquista, que não é só minha, mas de todos vocês.

Desde já, peço desculpas se por falha na memória deixei de agradecer alguém.

*À Deus,*

Por colocar em meu caminho pessoas tão boas e dispostas a ajudar, além de dar-me coragem para superar os obstáculos.

Pela força e coragem que nos proporciona para enfrentarmos os desafios do dia-a-dia da vida.

Pela vontade de viver, crescer, aprender e partilhar.

*Aos meus pais (Valmiro e Luzia),*

Pela preocupação, cuidado, direcionamento e apoio em todos os momentos. Pelo seu amor incondicional que não mede esforços para que tenhamos e sejamos o melhor. Por ser a força propulsora para persistirmos no caminho o qual escolhemos.

À eles, que sempre souberam nos educar tão sabiamente com amor, nos mostrando a importância dos estudos na formação intelectual e da personalidade. Sempre deixando os ensinamentos de humildade, consideração, perseverança e otimismo.

Pela compreensão, incentivo e encorajamento na hora de renunciar o convívio familiar de seu filho em prol de seu crescimento.

Por serem exemplos de coragem, amor, determinação, retidão e perseverança. É de vocês o mérito dessa conquista.

*Às minhas irmãs (Clévia e Martina),*

Pelo apoio, amor e união.

Por compartilhar preocupações, estresses e todas as alegrias advinhas do Mestrado.

*À minha família (pais, irmãs, tios e avó),*

Por serem a razão da minha energia, persistência e luta.

*Aos professores do Mestrado em Fisiologia,*

Pelo conhecimento, incentivo, experiência e amadurecimento.

*Ao meu orientador, Professor Rubem,*

Pela dedicação, competência, conhecimento, cuidado, paciência e permanente incentivo ofertados no decorrer da elaboração desta dissertação.

Por ser referência intelectual, dando-me oportunidade de conviver e partilhar de seus conhecimentos e de sua companhia.

Por compreender minhas limitações e imaturidade no âmbito da pesquisa, e incentivar, direcionar e aconselhar de tal modo que estas fossem superadas.

Pelas correções e sugestões tão sábias e criteriosamente aplicadas na execução deste estudo.

Por acreditar nas minhas capacidades.

Pela amizade e incentivo a pesquisa.

*Aos Amigos,*

Foram vários os amigos que conquistei tanto dentro quanto fora da universidade. À eles, gostaria de agradecer pelas palavras que me encorajaram quando quis fraquejar. Pela compreensão e apoio nas ausências, aliviando a culpa por não estar perto o tanto quanto gostaria.

Em especial, gostaria de agradecer a Kátia, pela sua amizade, acolhida e auxílio oferecidos desde o momento que cheguei a laboratório. À Cilene, amiga para todas as horas. À Ângela, que se tornou uma amiga preocupada e prestativa, além de uma companhia quando estava em casa. À Manuella, que aos poucos tornou-se amiga e companheira.

A todos que compõem o LAFINNT (professores, secretaria, estagiários, mestrados e doutorados) muitíssimo obrigado pela assistência e amizade.

Meus sinceros agradecimentos.

*“Se uma tarefa pode ser realizada  
De acordo com a Razão  
Que é comum aos homens e aos deuses,  
Então não há nada a temer,  
Pois quando um homem se torna útil  
Por uma atividade bem dirigida  
E que vai ao encontro das leis de seu ser,  
Faz um trabalho em favor da Natureza”.*

Marco Aurélio

## RESUMO

O efeito da influência da lesão cortical contralateral sobre a Depressão Alastrante (DA) foi estudado em 19 ratos adultos bem-nutridos (alimentados por uma dieta comercial com 23% de proteína) e 18 desnutridos (amamentados por mães que receberam uma dieta deficiente – dieta básica regional, com 8% de proteína). A DA foi deflagrada no córtex frontal direito em intervalos de 20 min e sua propagação foi monitorada em dois pontos da superfície parietal. Após um período de registro basal (2h), o córtex contralateral foi longitudinalmente cortado, com um bisturi elétrico, com a finalidade de interromper as fibras que vão em direção ao outro hemisfério através do corpo caloso (6,7mm de extensão, 3-5mm de profundidade e 1-2 mm da linha média, de acordo com o Atlas de Paxinos e Watson). Logo após a lesão, o registro foi continuado por mais duas horas. A lesão das fibras calosas foi histologicamente confirmada em todos os animais. Em comparação aos valores basais, as velocidades após a lesão aumentaram significativamente nos animais bem-nutridos e desnutridos (bem-nutridos,  $3,34 \pm 0,09$  vs  $4,03 \pm 0,14$  mm/min; desnutridos,  $4,08 \pm 0,20$  vs  $4,23 \pm 0,29$ ;  $P \leq 0,05$ , teste t pareado). Transcorridos 3-7 dias (período de recuperação), um segundo registro da DA (2h), realizado nos mesmos animais, revelaram uma persistência no aumento da velocidade da DA, indicando que este efeito é duradouro. Nenhuma diferença foi encontrada nos ratos controles (21 bem-nutridos e 21 desnutridos). O aumento na velocidade foi também observado num grupo adicional (n=8) submetido a lesão na linha média (calosotomia), sugerindo o envolvimento de fibras calosas sobre o efeito observado. Os resultados dão respaldo à hipótese de um papel inibitório da atividade cortical contralateral sobre a DA, que parece ser duradouro e que não é influenciado pela desnutrição precoce.

Palavras chaves: influência cortical contralateral, depressão alastrante, desnutrição, plasticidade cerebral, corpo caloso

## ABSTRACT

The effect of contralateral cortical lesion influence on spreading depression (SD) has been studied in 19 well-nourished (fed a commercial diet with 23% protein) and 18 early-malnourished male Wistar adult rats (suckled by dams fed a deficient diet – the “basic regional diet, with only 8% protein). SD was evoked on the right frontal cortex at 20min intervals and its propagation was monitored at 2 points on the parietal surface. After a 2h-“baseline” recording period, the contralateral cortex was longitudinally cut, with electric knife, in order to interrupt fibers directing to the other hemisphere via corpus callosum (6.7mm extension, 3-5mm deep, 1-2 mm from the midline according to the Paxinos & Watson rat brain atlas). Post-lesion SD recording was continued for 2 more hours. Lesion of fibers directing to corpus callosum was histologically confirmed in all animals. Compared to the baseline values, post-lesion SD-velocities in both well-nourished and malnourished rats increased significantly (well-nourished,  $3.34 \pm 0.09$  vs  $4.03 \pm 0.14$  mm/min; malnourished,  $4.08 \pm 0.20$  vs  $4.23 \pm 0.29$ ;  $P \leq 0.05$ , paired *t*-test). After 3-7 days “recovery period”, a second 2h-SD recording session, performed in the same animals, revealed the permanence of the lesion-related increase in SD velocity, indicating that this effect is long-lasting. No significant difference was found in sham-operated rats (21 well-nourished and 21 malnourished). The SD-velocity increase was also observed in an additional well-nourished group (n=8) submitted to midline lesion (callosotomy), suggesting the involvement of callosal fibers on the observed effect. The results support the hypothesis of an inhibitory role of contralateral cortical activity on SD, which seems to be long lasting and is not influenced by early malnutrition.

Keywords: contralateral cortical influence, spreading depression, malnutrition, brain plasticity, corpus callosum

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Esquema Demonstrativo dos Grupos Experimentais .....	34
<b>Figura 2</b> – Cortes Coronais do Encéfalo em um Animal com Lesão Contralateral.....	39
<b>Figura 3</b> – Cortes Coronais do Encéfalo em um Animal Lesionado na Linha Média.....	39
<b>Figura 4</b> – Evolução Ponderal dos Animais .....	44
<b>Figura 5</b> – Exemplos de Registros Eletrofisiológicos em Animais Bem-Nutridos .....	48
<b>Figura 6</b> - Exemplos de Registros Eletrofisiológico em Animais Desnutridos .....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição da Dieta LABINA .....	31
<b>Tabela 2</b> – Composição Centesimal da Dieta Básica Regional.....	32
<b>Tabela 3</b> – Pesos Corporais Médios dos Animais .....	45
<b>Tabela 4</b> – Velocidades Médias de Propagação da Depressão Alastrante .....	47

## LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

Anova – Análise de Variância

BN-LC – Grupo Bem-Nutrido Lesão Cortical Contralateral

BN-LF – Grupo Bem-Nutrido Lesão Fictícia

BN-LM – Grupo Bem-Nutrido Lesionado na Linha Média

DA – Depressão Alastrante

DBR – Dieta Básica Regional

D-LC – Grupo Desnutrido Lesão Cortical Contralateral

D-LF – Grupo Desnutrido Lesão Fictícia

ECoG – Eletrocorticograma

LZP – Lorazepam

PCRC – Período de Crescimento Rápido do Cérebro

S<sub>2</sub> – Receptor da Serotonina, tipo 2

VLV – Variação Lenta de Voltagem

## SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Relações Inter-Hemisféricas Cerebrais.....	16
1.2 O Corpo Caloso.....	17
1.3 Alterações Nutricionais e Desenvolvimento do Sistema Nervoso.....	19
1.4 Desnutrição pela Dieta Básica Regional.....	20
1.5 Depressão Alastrante Cortical.....	22
1.6 Influência Interhemisférica Cortical, Depressão Alastrante e Desnutrição.....	24
2 RELEVÂNCIA DO TRABALHO.....	27
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivos Específicos.....	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1 Animais.....	29
4.2 Procedimento Cirúrgico.....	33
4.3 Registro Eletrofisiológico da DA.....	35
4.4 Procedimento Cirúrgico para a Lesão Cortical no Hemisfério Esquerdo.....	36
4.5 Procedimento Cirúrgico para Lesão na Linha Média.....	37
4.6 Procedimento Pós- Registro.....	37

4.7 Segundo Registro Eletrofisiológico e Procedimento Pós-registro.....	38
4.8 Etapas do Protocolo Experimental.....	40
4.9 Análise Estatística.....	42
5 RESULTADOS.....	43
5.1 Peso corporal.....	43
5.2 Velocidade de Propagação da DA.....	46
6 DISCUSSÃO.....	50
6.1 Peso Corporal.....	50
6.2 Velocidade da DA e Influências Inter-Hemisféricas.....	51
6.3 Efeitos da Desnutrição sobre a Lesão Cortical e a Velocidade da DA.....	58
6.4 Considerações Finais.....	60
7 CONCLUSÕES.....	61
8 PERSPECTIVAS.....	62
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
ANEXO A – Carta do Comitê de Ética.....	84

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Relações Inter-hemisféricas Cerebrais

O surgimento das fibras nervosas inter-hemisféricas, em mamíferos, permitiu a integração de áreas funcionais de cada hemisfério (ABOITIZ e IDE, 1998). Foi a partir desta conexão, que os hemisférios tornaram-se capazes de interagir de forma sincrônica (ABOITIZ *et al.*, 2003).

Os hemisférios cerebrais são assimétricos do ponto de vista de algumas de suas funções (MACHADO, 1998) e são influenciados pelos processos de sincronismo, lateralidade e dominância (GESCHWIND e LEVISTSKY, 1968). As espécies que possuem cérebro grande e conseqüentemente apresentam uma maior distância inter-hemisférica, como nos seres humanos, podem ter os processos de sincronia e conectividade diminuídos (OLIVARES *et al.*, 2001). Este fato pode favorecer a lateralização e a dominância cerebral (RINGO *et al.*, 1994).

Os hemisférios cerebrais trabalham em conjunto e interagem através das suas comissuras (ECCLES, 1979). O corpo caloso constitui a maior das comissuras cerebrais e é responsável por promover a transmissão da informação inter-hemisférica de forma rápida (BERLUCCHI *et al.*, 1995; FABRI *et al.*, 2005). Indivíduos com agenesia do corpo caloso possuem o tempo de transmissão inter-hemisférico aumentado. Nestes indivíduos, a transmissão é realizada por outras vias menos eficientes, como a comissura anterior e a hipocampal (BERLUCCHI *et al.*, 1995).

O corpo caloso, por ser a principal comissura cerebral envolvida no processo de transmissão inter-hemisférica da informação, tem sido alvo de pesquisas visando esclarecer sua influência sobre a atividade hemisférica, bem como seu papel no bloqueio da transmissão de focos epilépticos. A seguir, serão feitas referências sobre estes papéis, conhecidamente desempenhadas pelo corpo caloso e sobre suas características principais.

## 1.2 O Corpo Caloso

Em mamíferos, o corpo caloso é formado por um conjunto de fibras que conectam áreas corticais de ambos os hemisférios (LENT e SCHMIDT, 1993). Ele desempenha diversas funções, dentre elas a comunicação da informação visual a nível cortical e de tronco encefálico através da linha média (ANTONINI *et al.*, 1979), representação bilateral da linguagem, inibição inter-hemisférica funcional (CLARKE e ZAIDEL, 1994), coordenação bimanual (ABOITIZ e MONTIEL, 2003), modulação da distribuição de recursos entre os dois hemisférios e pela filtragem da transmissão do sinal inter-hemisférico (MIKELS e REUTER-LORENZ, 2004). Assim, pode-se dizer que o corpo caloso é responsável pela conectividade inter-hemisférica e pela transferência e a integração inter-hemisférica da informação sensorial e cognitiva (HANAJIMA *et al.*, 2001; SMITH, 2005; FABRI *et al.*, 2005). Ele apresenta uma estrutura bem organizada, onde fibras anteriores conectam os lobos frontais e estão envolvidas na transferência da informação motora; e as fibras posteriores conectam os lobos temporais, parietais e occipitais, e estão envolvidas com a integração da informação somatossensorial (corpo posterior), auditiva (istmo) e visual (esplênio) (FUNNELL *et al.*, 2000). Até o momento, ainda não foi elucidada a importância destas diferenças.

Nos primatas, o corpo caloso é formado por fibras pouco mielinizadas, de pequeno calibre e de condução lenta; e por fibras mielinizadas, de grande calibre e de condução rápida. As fibras mielinizadas são encontradas em regiões calosas que conectam as áreas sensoriomotoras primária e secundária e promovem a rápida transmissão da informação; as fibras pouco mielinizadas estão presentes nas áreas pré-frontal e temporoparietal (ABOITIZ e SCHRÖTER, 2005). Este achado demonstra a importância da comunicação entre os hemisférios sensoriais. Diferentemente da distribuição existente nos primatas, a organização das fibras calosas nos roedores é difusa, no que se refere a distribuição de fibras mielínicas e amielínicas (KIM *et al.*, 1996).

Geralmente, as fibras calosas conectam áreas corticais homotópicas entre os hemisférios, mas também existem conexões corticais heterotópicas entre diferentes áreas, porém em menor quantidade (ABOITIZ *et al.*, 1992b). Estas conexões via corpo caloso podem exercer uma influência tanto excitatória quanto inibitória sobre a comunicação inter-hemisférica (BLOOM E HYND, 2005). Entretanto, a relação entre regiões calosas específicas e alterações da informação inter-hemisférica ainda não está clara (HOMMER *et al.*, 1996; PFEFFERBAUM *et al.*, 1996).

Alguns autores têm se empenhados em estudar as disfunções ocasionadas pela lesão do corpo caloso (GORDON *et al.*, 1971; JANCKE *et al.*, 1997; YAMAUCHI *et al.*, 1997; ELIASSEN *et al.*, 2000; PFEFFERBAUM *et al.*, 2000a e FABRI *et al.*, 2001). Eles observaram que a lesão desta estrutura pode levar a déficits na transmissão e integração sensorial e cognitiva. O dano causado pela lesão irá depender do local, da extensão (CAMPBELL *et al.*, 1981; GESCHWIND, 1965) e da idade em que foi realizada a lesão.

A elucidação dos diferentes papéis desempenhados pelo corpo caloso, a relação entre o seu tamanho, o tamanho cerebral e a diferença na conectividade inter-hemisférica ainda não está terminada. No entanto, é sabido que cérebros maiores possuem menos células projetando-

se através do corpo caloso (ABOITIZ e SCHRÖTER, 2005), que o tamanho desta estrutura é menor em indivíduos mais lateralizados (WITELSON, 1985, 1989; ABOITIZ *et al.*, 1992b; DORION *et al.*, 2000), e que o número de axônios calosos em relação às células corticais totais tende a diminuir em cérebros grandes (RILLING e INSEL, 1999; OLIVARES *et al.*, 2001).

Até o momento, tanto em humanos quanto em animais de laboratório, poucos trabalhos têm analisado os processos fisiológicos dependentes do corpo caloso em função do estado nutricional do organismo. Por considerar que o estado nutricional pode interferir no desenvolvimento do corpo caloso e conseqüentemente na transmissão inter-hemisférica, serão descritas a seguir, as relações entre alterações nutricionais e desenvolvimento do sistema nervoso.

### **1.3 Alterações Nutricionais e Desenvolvimento do Sistema Nervoso**

Nos mamíferos, o período de maior vulnerabilidade do sistema nervoso corresponde ao período de crescimento rápido do cérebro (PCRC). É nesta fase que ocorrem, com mais intensidade, os processos de hiperplasia, hipertrofia, mielinização e organização das sinapses. Este período de desenvolvimento neural intenso varia entre as espécies animais. No rato, ele corresponde ao período de aleitamento, que compreende as três primeiras semanas de vida pós-natal (DOBBING, 1968; MORGANE *et al.*, 1978; 1993). Devido às alterações que acontecem nesta fase, o cérebro torna-se mais susceptível às alterações nutricionais, ambientais e sócio-culturais (DOBBING, 1968).

No que diz respeito às alterações nutricionais, elas podem comprometer a estrutura e a função do SN de humanos e de outros mamíferos. Os danos causados por estas alterações dependem da intensidade e da duração do insulto nutricional (ALMEIDA *et al.*, 2002). Ao contrário do que ocorre durante o PCRC, a recuperação nutricional é melhor, quando a desnutrição é produzida após aquele período (MORGANE *et al.*, 1978).

A deficiência protéica afeta os processos de crescimento, desenvolvimento e síntese de proteínas, além de produzir distúrbios no metabolismo da água e de eletrólitos (CLOSA *et al.*, 1974; ANTHONY e EDOZIEN, 1974). A recuperação nutricional deve ser realizada através da ingestão de proteínas de alto valor biológico (COLOMBO *et al.*, 1992). Por outro lado, não somente a desnutrição pode interferir com o desenvolvimento e função cerebral; a hipernutrição também pode produzir alterações no sistema nervoso (TROIANO *et al.*, 1995; PLAGEMANN *et al.*, 1999; ALMEIDA *et al.*, 2002). O ambiente enriquecido auxilia na recuperação de animais desnutridos (FERNANDEZ *et al.*, 1997; GUEDES *et al.*, 1996) e de humanos (GRANTHAM-MCGREGOR *et al.*, 1991), principalmente se a estimulação ambiental for aplicada durante o PCRC (SANTOS-MONTEIRO *et al.*, 2000).

Uma forma experimental eficaz em produzir desnutrição tem sido usada em nosso laboratório e consiste no emprego da Dieta Básica Regional (DBR). Esta dieta foi utilizada no presente trabalho e a seguir, serão descritas as suas principais características, bem como as alterações provocadas ao nível do sistema nervoso.

#### **1.4 Desnutrição pela Dieta Básica Regional**

A Dieta Básica Regional é uma dieta multideficiente e desequilibrada. É pobre em proteínas, lipídeos, vitaminas, e possui altos valores de carboidratos e fibras quando

comparados com os valores controles. A maior quantidade protéica desta dieta é de origem vegetal, que possui um baixo valor biológico (COUTINHO, 1976; TEODÓSIO *et al.*, 1990). Ela foi elaborada com base na alimentação consumida pela população da Zona da Mata de Pernambuco. Sua composição tem uma base parecida com a alimentação diária das pessoas desta região, que é essencialmente composta de quatro alimentos: feijão (*Phaseolus vulgaris*), farinha de mandioca (*Manioc esculenta*), carne de charque seca e batata doce (*Ipamaea batatas*) (TEODÓSIO *et al.*, 1990).

No que diz respeito às alterações produzidas pela DBR, ela provoca, em animais, um tipo de desnutrição similar àquela das crianças que apresentam nanismo com sinais clínicos de marasmo (TEODÓSIO *et al.*, 1990). Quando esta dieta é administrada durante o período de gestação, ela causa uma diminuição na produção de leite e no peso corporal e cerebral dos filhotes, bem como, uma diminuição de DNA, RNA, proteínas (TEODÓSIO *et al.*, 1990; GUEDES *et al.*, 1996). A administração da DBR às mães durante o aleitamento, que no rato corresponde às três primeiras semanas de vida, provoca nos filhotes alterações duradouras no peso corporal e cerebral (GUEDES *et al.*, 1987a).

Algumas alterações no sistema nervoso foram também observadas quando ratos adultos foram submetidos cronicamente à DBR. Estes animais apresentaram diminuição de 50% na velocidade de condução do impulso no nervo ciático (SILVA *et al.*, 1987) e aumento na susceptibilidade à convulsão induzida por drogas (CABRAL-FILHO *et al.*, 1986).

Os resultados acima relatados demonstram que a DBR é capaz de causar alterações tanto no sistema nervoso central quanto no sistema nervoso periférico, e que estas alterações são mais graves quando esta dieta é administrada durante o PCRC. De acordo com os resultados, está evidente que a desnutrição causada pela DBR constitui um modelo experimental eficaz em produzir desnutrição.

No que se refere à relação entre desnutrição e corpo caloso, poucos estudos têm sido realizados. Bronzino *et al.* (1975) e Forbes *et al.* (1975) verificaram que animais desnutridos com 8% de proteína durante o período de aleitamento apresentam aumento do tempo de resposta através do corpo caloso e de áreas visuais. O aumento no tempo de resposta foi também observado por Morgane *et al.* (1978), utilizando ratos adultos (60-65 dias e 95-100 dias) com deficiência protéica.

A utilização da desnutrição como uma condição experimental de importância clínica vem sendo empregada no laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio associada ao Fenômeno da Depressão Alastrante (DA). As características deste fenômeno e sua relação com outras condições experimentais serão abordadas no tópico seguinte.

### **1.5 Depressão Alastrante Cortical**

A DA consiste em uma onda de supressão reversível e propagável da atividade elétrica espontânea em resposta à estimulação elétrica, mecânica ou química em um ponto na superfície cortical. Caracteriza-se por uma diminuição transitória da atividade elétrica espontânea - que dura em torno de 1 a 2 minutos - a partir do ponto estimulado, e é simultaneamente acompanhada por alterações do calibre dos vasos sanguíneos cerebrais (LEÃO, 1944), variação lenta de voltagem (VLV) (LEÃO, 1947), aumento da impedância elétrica do tecido (LEÃO e MARTINS-FERREIRA, 1953); diminuição da pressão parcial de O<sub>2</sub> (LUKYANOVÁ e BURES, 1967); fluxo de íons e água através da membrana (NICHOLSON e KRAIG, 1975; KRAIG e NICHOLSON, 1978; PHILLIPS e NICHOLSON, 1979). Independente da intensidade do estímulo aplicado, a DA propaga-se de forma lenta e

concêntrica a partir do ponto estimulado por todo o córtex, usualmente com velocidades de 2 a 5mm/min. À medida que a DA se propaga, a região inicialmente estimulada começa a se recuperar (LEÃO, 1944; 1947). Antes de se recuperar, a região estimulada permanece, por um tempo variável, eletricamente inativa, devido às alterações na voltagem e na impedância cortical que ocorrem na frente de onda da DA e que impedem que outra DA seja iniciada (LEÃO e MARTINS-FERRREIRA, 1953; BURES *et al.*, 1975; KORELOVA e BURES, 1979; 1980). A recuperação ocorre lentamente e decorridos 10-15 minutos, o córtex encontra-se totalmente recuperado.

Durante a DA, ocorre aumento das concentrações extracelulares de potássio (KRAIG e NICHOLSON, 1978; VYSKOCIL *et al.*, 1972) e ascorbato (RICE e NICHOLSON, 1987); e diminuição de sódio, cloreto e cálcio, além de alterações no volume e no pH no tecido (SUGAYA *et al.*, 1971; 1978; KRAIG e NICHOLSON, 1978; VYSKOCIL *et al.*, 1972).

A DA pode ser alterada por várias condições locais e gerais, tais como: asfixia, temperatura corporal, adrenalectomia, metrazol, aplicações sistêmicas de agentes despolarizantes e hiperpolarizantes (BURES *et al.*, 1974), alterações iônicas extracelulares, alterações da glicemia e manipulação de alguns neurotransmissores (GUEDES e DO CARMO, 1980; GUEDES *et al.*, 1987b; GUEDES *et al.*, 1988; XIMENES-DA-SILVA e GUEDES, 1991; GUEDES *et al.*, 1992; 2002).

Tem sido relatado que algumas características da DA, como o aparecimento eventual de atividade eletrográfica anormal e alterações vasculares, são semelhantes às aquelas encontradas na epilepsia, na enxaqueca com aura e na isquemia. Devido a estas constatações, vários autores (LEÃO, 1944; LEHMENKÜHLER *et al.*, 1993; TAKANO *et al.*, 1996; HADJIKHANI *et al.*, 2001) têm associado os mecanismos destas doenças com o mecanismo da DA.

Há evidências na literatura de que várias condições que modificam a excitabilidade neural também podem influenciar a susceptibilidade da DA (LEÃO, 1944; GUEDES, 1984; GUEDES *et al.*, 1987b). Dessa forma, ao se investigar condições que possam alterar a susceptibilidade cortical a DA, como a desnutrição, pode-se compreender os mecanismos envolvidos na sua gênese e propagação, bem como a forma com que estas alterações possam influenciar situações fisiológicas e patológicas (GUEDES, 1984; 2005).

A relação entre desnutrição pela DBR e DA foi investigada por Guedes *et al.* (1987a). Estes autores constataram que a desnutrição precoce pela DBR causa aumento na velocidade de propagação da DA. Quando a DBR era administrada apenas na vida adulta nenhuma diferença foi encontrada em relação aos grupos controles. A suplementação da DBR em lipídeos, vitaminas e minerais, mas não em proteína, não revertem os efeitos sobre as velocidades da DA, que continuaram aumentadas. Entretanto, tais efeitos deixam de ser observados quando a suplementação foi feita com caseína – proteína de origem animal com alto valor biológico (GUEDES *et al.*, 1987a; ANDRADE *et al.*, 1990).

Apesar dos inúmeros estudos acerca da DA, a tríplice relação entre esse fenômeno, influências inter-hemisféricas corticais e desnutrição ainda não foi investigada. É o que se pretende estudar neste trabalho.

### **1.6 Influência Inter-hemisférica Cortical, Depressão Alastrante e Desnutrição**

Lesões agudas neocorticais aumentam a excitabilidade em áreas homotópicas do hemisfério contralateral (BUCHKREMER-RATZMANN *et al.*, 1996; NEUMANN-HAEFELIN e WILTE, 2000). O mesmo não ocorre em amputados. Estes apresentam uma

diminuição da excitabilidade produzida pelo estabelecimento da perda do balanço inter-hemisférico (KINSBOURNE, 1977; RAUSCHECKER, 1997). Estes achados sugerem que com o decorrer do tempo, a falta de informação sensório-motora conduzida ao cérebro ou através dos hemisférios promove uma plasticidade no hemisfério afetado.

Adicionalmente, os trabalhos de Asanuma e Okuda (1962); de Ferbert *et al.* (1992); e de Dilazzaro *et al.* (1999) constataram que as conexões inter-hemisféricas que ligam o córtex motor primário e sensorial poderiam exercer influências inibitórias sobre áreas homotópicas no hemisfério contralateral. Entretanto, influências excitatórias entre os hemisférios através do corpo caloso também têm sido descritas por Galaburda *et al.*, 1990a,b. Dessa forma, o corpo caloso em algumas situações pode exercer um papel inibitório e em outras, excitatório, dependendo da tarefa a ser realizada (BLOOM e HYND, 2005).

Como já mencionado anteriormente, as condições que alteram a excitabilidade cerebral também modificam a incidência e propagação da Depressão Alastrante. Apesar disso, poucos estudos são encontrados na literatura sobre a transferência inter-hemisférica e DA. As únicas evidências foram inicialmente relatadas nos experimentos de Leão (1944) e de Leão e Morison (1945), utilizando estímulo elétrico de grande intensidade. Guedes e Do Carmo (1980) reduziram, no coelho, a concentração de  $Cl^-$  extracelular e observaram o aparecimento da DA no hemisfério contralateral ao estimulado. Em todos estes trabalhos, a transferência inter-hemisférica foi abolida após comissurectomia.

No trabalho realizado por Leão em 1944, foi demonstrado que a aplicação de um estímulo elétrico de grande intensidade em um hemisfério produz o aparecimento de uma onda de DA no outro hemisfério em uma região simétrica àquela estimulada. Esta resposta é mais facilmente obtida nas áreas frontais. Ele relatou também que a depressão em um hemisfério poderia produzir respostas sensoriais características no outro hemisfério.

Há evidências de que a desnutrição e condições que possam interferir na transferência inter-hemisférica alteram a excitabilidade cortical. Já que as condições que alteram a excitabilidade cortical também podem modificar a susceptibilidade a DA, pode-se supor que tais condições também possam interferir nos mecanismos desse fenômeno. Apesar de não haver, até o momento, correlações entre desnutrição, influências calosas e DA, sabe-se que a desnutrição aumenta sua incidência e propagação, porém, ainda não foi esclarecido o papel dessas influências sobre a DA, nem como a desnutrição possa interferir neste processo. O presente trabalho pretende contribuir para esse estudo. A relevância e os objetivos do trabalho serão definidos a seguir.

## **2 RELEVÂNCIA DO TRABALHO**

Pretende-se no presente trabalho investigar os efeitos da supressão das influências contralaterais corticais sobre a DA em animais bem-nutridos e em animais desnutridos pela DBR no período de aleitamento. Este tema, pelo que se tem conhecimento, até o presente momento não tem sido objeto de estudo. Com o objetivo de avaliar essa tríplice relação, este trabalho pretende estudá-las em ratos adultos normonutridos ou previamente submetidos à desnutrição pela DBR. Para isso, as influências corticais contralaterais foram suprimidas ou atenuadas por meio de lesão cortical realizada na linha média ou no hemisfério esquerdo em ratos, nos quais se registrou o fenômeno da Depressão Alastrante no hemisfério direito. Ao mesmo tempo em que os resultados desta pesquisa propiciarão informações a respeito do papel das influências corticais contralaterais sobre a DA, eles também poderão ajudar a entender como a desnutrição modifica essas influências. Adicionalmente, poderão contribuir para a compreensão dos mecanismos de propagação e gênese desse fenômeno.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Analisar as características do fenômeno da Depressão Alastrante no hemisfério direito de ratos adultos bem-nutridos e desnutridos, após a supressão das influências inter-hemisféricas corticais, causada pela lesão cortical no hemisfério esquerdo ou na linha média (calosotomia; em animais bem-nutridos).

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Em função da lesão acima descrita, analisar, com respeito à DA:
  - os efeitos agudos (no dia da lesão), em comparação com os tardios (3 a 7 dias após);
  - o impacto da desnutrição precoce pela DBR sobre os efeitos acima mencionados.
  
- Com relação ao peso corporal, avaliar:
  - o impacto do estado nutricional em diferentes idades;
  - na idade adulta, a influência da lesão cirúrgica.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pernambuco, e está de acordo com as normas vigentes no Brasil que trata da questão do uso de animais para fins científicos (**ANEXO A**). Ratas gestantes da linhagem Wistar foram obtidas do biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco e mantidas separadamente em gaiolas-maternidade em ambiente com uma temperatura controlada de  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e ciclo claro-escuro (12-12h), com o escuro começando às 18h. Decorridos 48hs após o parto, foi realizada a “sexagem” e as ninhadas foram ajustadas para conter seis filhotes, todos machos. Durante o período de aleitamento, as mães receberam uma dieta hipoproteíca (Dieta Básica Regional – DBR, com 8% de proteína) ou uma dieta normoproteíca [LABINA (Agribands Purina do Brasil Ltda), com 23% de proteína], constituindo assim os grupos desnutrido (D) e bem-nutrido (BN) (ver composição das dietas nas **Tabelas 1 e 2**). Após o desmame, aos 21 dias de vida pós-natal, os filhotes foram separados das mães, e passaram a ter livre acesso a água filtrada e a dieta comercial LABINA, permanecendo nas mesmas condições ambientais maternas até atingirem a idade adulta.

Quando os filhotes atingiram idade superior a 3 meses e inferior a 4 meses, com peso entre 206,5 e 337,5g (desnutrido; n= 39), e de 254,5 a 403,9g (bem-nutrido; n= 48), foram divididos nos cinco grupos experimentais descritos a seguir: (Ver organograma – **Figura 1**)

**1 - Grupo Bem-Nutrido Lesão Fictícia (BN-LF) (n=21)** – composto por animais que receberam durante o período de aleitamento a dieta comercial labina e que foram submetidos na vida adulta a “lesão fictícia”. Este grupo passou por todo estresse cirúrgico dos grupos lesionados, mas não sofreu lesão cortical.

**2 – Grupo Bem-Nutrido Lesão Cortical Contralateral (BN-LC) (n=19)** - formado por animais que receberam durante a amamentação e após o desmame, a dieta padrão do biotério (labina) e que sofreram na idade adulta, lesão cortical longitudinal a 1mm da linha média no hemisfério esquerdo (HE), em toda a extensão correspondente à do corpo caloso.

**3 – Grupo Bem-Nutrido Lesionado na Linha Média (BN-LM) (n=8)** – formado por animais alimentados durante toda a vida com a dieta comercial labina e que foram submetidos à lesão na linha média (calosotomia).

**4 – Grupo Desnutrido Lesão Fictícia (D-LF) (n=21)** – composto por animais desnutridos pela DBR no aleitamento e que passaram por estresse cirúrgico semelhante ao do grupo que teve lesão cortical real, porém não sofreu lesão.

**5 – Grupo Desnutrido Lesão Cortical Contralateral (D-LC) (n=18)** – constituído por animais desnutridos pela DBR no aleitamento e que sofreram lesão cortical no hemisfério esquerdo realizada a 1mm da linha média, semelhante ao grupo 2 acima.

Os animais foram pesados ao término do 1º, do 2º e do 3º mês de vida, bem como nos dias dos registros da depressão alastrante (90 – 120 dias de vida), em uma balança eletrônica digital Marte, Modelo 1001 com capacidade para 1610g e sensibilidade de 0,1g.

**TABELA 1** – Composição da dieta "Labina" (Purina do Brasil Ltda)\*

Composição Básica: Milho, Farelo de Trigo, Farelo de Soja, Farinha de Carne, Farelo de Arroz Cru, Carbonato de Cálcio, Fosfato Bicálcico, Sal, Pré-Mix.

## ENRIQUECIMENTO POR KG DE PRODUTO

Vitamina A	20.000 UI
Vitamina D <sub>3</sub>	6.000
Vitamina E	30 UI
Vitamina K	6 mg
Vitamina B <sub>12</sub>	10mg
Vitamina B <sub>2</sub>	28 mg
Pantotenato de Cálcio	24 mg
Niacina	95 mg
Tiamina	4 mg
Colina	2.000 mg
Pirodoxina	6 mg
Biotina	0,1 mg
Ácido Fólico	0,5 mg
Manganês	50 mg
Iodo	2 mg
Ferro	65 mg
Zinco	35 mg
Cobre	26 mg
Antioxidante	100 mg

## NÍVEIS DE GARANTIA

Unidade (máx.)	13,0%
Proteína (mín.)	23,0%
Extrato Etéreo (mín.)	2,5%
Matéria Fibrosa (máx.)	9,0%
Matéria mineral (máx.)	8,0%
Cálcio (Ca) (máx.)	1,8%
Fósforo (P)	0,8%

\*Segundo Purina do Brasil Ltda.

**TABELA 2** – Composição Centesimal da Dieta Básica Regional (DBR)<sup>a</sup>

Ingredientes	g%	Composição Centesimal					
		Proteínas	Carboidratos	Lipídios	Cinzas	Fibras	Kcal%
Feijão Mulatinho <sup>b</sup>	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 <sup>b</sup>	3,74	2,74	-	0,06	0,06	-	11,50
Gordura (da charque)	0,35	-	-	0,35	-	-	3,15
Batata Doce <sup>b</sup>	12,76	0,30	9,99	0,03	0,20	0,48	41,43
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>7,87</b>	<b>69,24</b>	<b>0,80</b>	<b>1,26</b>	<b>7,21</b>	<b>315,64</b>

a = segundo Teodósio *et al.*, 1990.

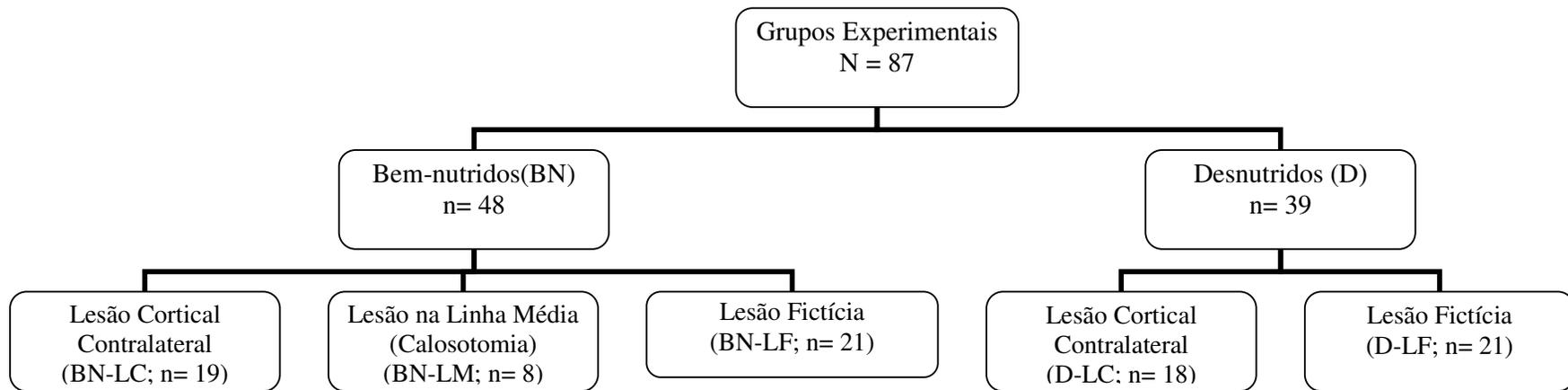
b = cozido, desidratado e moído.

## 4.2 Procedimento Cirúrgico

O registro eletrofisiológico foi realizado quando os animais atingiram idade entre 90 e 120 dias. Eles então, foram anestesiados por via intraperitoneal com uma solução de uretana a 10% + cloralose a 0,4% (no volume de 10ml/kg de peso corporal, correspondendo à dose de 1g/kg de uretana + 40mg/kg de cloralose). Em seguida, colocados em decúbito ventral sobre um aquecedor elétrico, com a cabeça fixada à base de um aparelho estereotáxico (David-Kopf, USA, Modelo 900). A temperatura retal foi mantida entre  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e ajustada quando os valores saíam desta faixa de temperatura.

Uma incisão na pele da cabeça foi feita ao nível da linha média, expondo os ossos cranianos, onde foi realizada a trepanação de três orifícios de 3mm de diâmetro ao nível do hemisfério direito (um localizado no osso frontal – orifício de estimulação, e os outros dois localizados no osso parietal - orifícios de registro). Logo após, os animais foram submetidos ao registro da DA em dois pontos corticais do hemisfério direito.

Todos os grupos foram submetidos ao registro eletrofisiológico por um período basal de 2h antes da realização da lesão real ou fictícia. Após este procedimento, o registro da DA no hemisfério direito foi continuado por mais duas horas. Depois de um período de recuperação cirúrgica de 3 a 7 dias, os animais foram submetidos a novo registro eletrofisiológico.



**Figura 1 Esquema demonstrativo dos 5 grupos que foram estudados neste trabalho.**

### 4.3 Registro Eletrofisiológico da DA

Para a realização do registro electrocorticográfico e da variação lenta de voltagem que acompanha a DA, foram confeccionados eletrodos impolarizáveis do tipo Ag-AgCl. Para isso, fios de prata de 3 cm foram limpos e imersos em uma solução de Ringer com a finalidade de promover, por meio de eletrólise, a deposição de uma fina camada de AgCl nesses fios. Em seguida, eles foram colocados em tubos cônicos de polietileno com 5 cm de comprimento, 5 mm de diâmetro superior e 0,5 mm de diâmetro interno na extremidade inferior. Esses tubos foram preenchidos com uma solução de Agar-Ringer a 1,5%. Dois eletrodos assim preparados, foram colados com cola à base de cianoacrilato, de modo a formarem um par, com distância fixa entre as pontas (variando, de um par a outro, entre 3 e 5,5 mm). Esse par era preso em uma haste de madeira, e esta a um sistema de alavancas que permitia a movimentação dos eletrodos para cima e para baixo por meio do acionamento de um parafuso. Estes dois eletrodos foram posicionados sob a superfície cortical exposta dos orifícios de registro. Um terceiro eletrodo, confeccionado da mesma forma, foi posicionado sobre os ossos nasais e usado como referência comum.

O registro da DA foi realizado em um polígrafo MODELO 7D (Grass Medical Instruments) por um período de 4 horas. A DA foi provocada, em intervalos de 20 minutos, pela aplicação de uma bolinha de algodão (1-2 mm de diâmetro) embebida de KCl a 2% durante um minuto em um ponto no córtex frontal. A propagação da DA foi acompanhada por meio do registro da atividade elétrica cortical espontânea e da variação lenta de voltagem, e a sua velocidade de propagação foi calculada com base no tempo gasto para a DA percorrer a distância entre os dois pontos de registro localizados na região parietal. Ao término do

período controle de registro da DA (2h), os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico para a lesão cortical no hemisfério esquerdo.

#### **4.4 Procedimento Cirúrgico para a Lesão Cortical no Hemisfério Esquerdo**

Após 2h de registro basal, foi feita a trepanação de dois orifícios no hemisfério esquerdo, que foram ampliados e unidos com osteótomo, formando uma abertura retangular de 8x3 mm. O orifício único formado possuía extensão suficiente para a realização da lesão cortical. Após estes procedimentos, os animais foram submetidos à lesão real ou fictícia, conforme o grupo a que pertenciam. As medianas do horário da lesão (mín. e máx., em **h**), em cada grupo, foram as seguintes: BN-LF: 14:18h (9:50h - 20:04h), BN-LC: 12:44h (9: 34h - 16:44h), D-LF: 11:29h (9:50h - 17:52h) e D-LC: 11:33h (10:08 - 16:51h).

A lesão real foi realizada no hemisfério esquerdo com o auxílio de um bisturi elétrico (modelo MBJII Medcir Solid State) a 1mm da linha média, no sentido lateral, com extensão de 6,7mm (ântero-posterior) e profundidade de 3-5mm. Esta lesão era suficiente para seccionar as fibras nervosas que passam em direção ao outro hemisfério, através do corpo caloso, segundo o Atlas de Paxinos e Watson (1998). A lesão iniciou-se a 1,2 mm anterior ao Bregma e terminou 5,5 mm posterior a esta referência anatômica.

Os animais que sofreram a lesão fictícia passaram por todos os procedimentos cirúrgicos, exceto a lesão com o bisturi elétrico.

#### **4.5 Procedimento Cirúrgico para Lesão na Linha Média**

O grupo BN-LM (n = 8) foi criado com o intuito de averiguar se a lesão realizada na linha média (calosotomia) teria o mesmo efeito sobre a DA que uma lesão cortical realizada a 1mm da linha média no hemisfério esquerdo.

Os procedimentos para a realização desta lesão foram os mesmos realizados no grupo com lesão contralateral, com exceção de que foi realizada com um trépano uma abertura circular de 10 mm de diâmetro na linha média. Próximo ao seio venoso, a dura-máter foi seccionada com uma tesoura e o seio venoso afastado com afastador. Neste grupo, foram empregadas as mesmas coordenadas estereotáxicas (A-P e de profundidade) que foram utilizadas no grupo com lesão cortical contralateral. A mediana do horário da lesão foi de 12:27h, com mín. de 10:45h e máx. de 13:24h.

#### **4.6 Procedimento pós-registro**

Após a realização do registro eletrofisiológico basal (2h) + lesão cortical (40 - 60min) + registro eletrofisiológico pós-lesão (2h), os ratos foram suturados e colocados em gaiolas individuais. Para evitar desidratação e infecção, eles receberam logo após o registro da DA por via intraperitoneal: uma solução contendo glicose (0,5g/10mL de água destilada) + cloreto de sódio (0,1g/10mL de água destilada); e 30.000U (0,2 mL) de benzil-penicilina benzatina (Benzetacil<sup>®</sup>) respectivamente. Em seguida, eles permaneceram em uma sala isolada, onde passaram por um período de recuperação de 3 a 7 dias, após o qual foi feita uma segunda sessão de registro eletrofisiológico (por 2h), como descrito a seguir.

#### 4.7 Segundo Registro Eletrofisiológico e Procedimento pós-registro

Independente do tipo de lesão realizada (real ou fictícia), os animais frequentemente apresentaram uma camada cicatricial sobre os orifícios de registro, o que muitas vezes dificultou, mas não impediu o registro adequado da DA. Nos casos em que essa camada era muito espessa, promoveu-se a sua retirada, total ou parcial, passando-se suavemente um algodão embebido em solução de Ringer.

Ao término do registro, os cérebros foram retirados e conservados em formol a 10%. Depois de um período de 7 dias, eles foram seccionados com um bisturi no plano sagital, ao longo de toda a extensão da lesão, e com o auxílio de uma lupa estereoscópica foi feita a confirmação da área lesionada (**Figuras 2 e 3**).

Os animais cujas lesões não atingiram toda a profundidade cortical, de modo a assegurar a interrupção das conexões inter-hemisféricas, foram descartados.

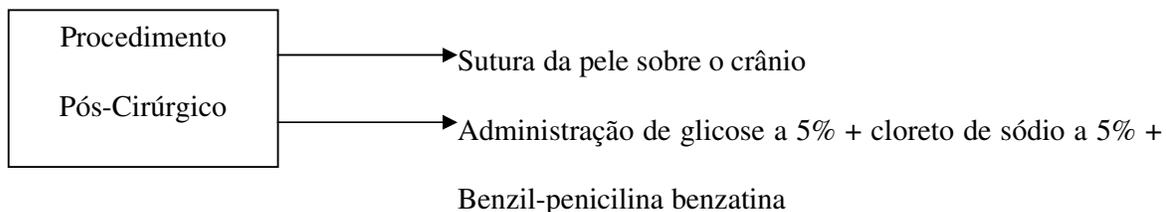
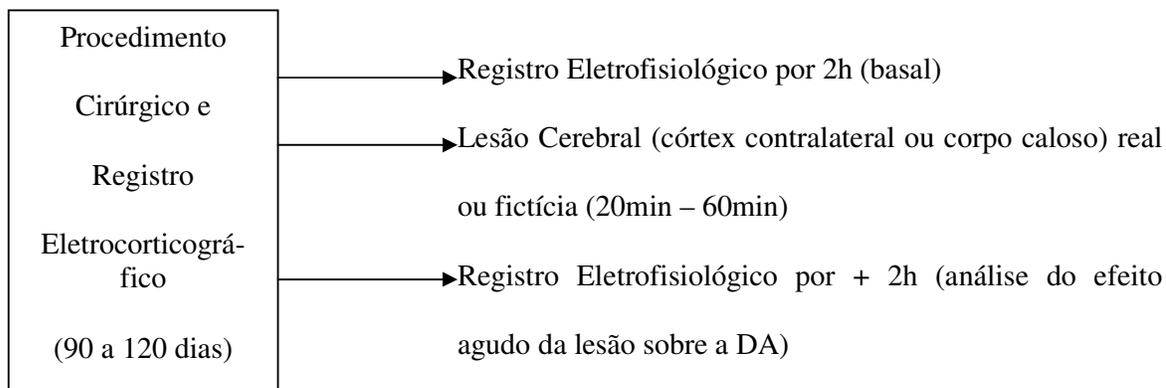
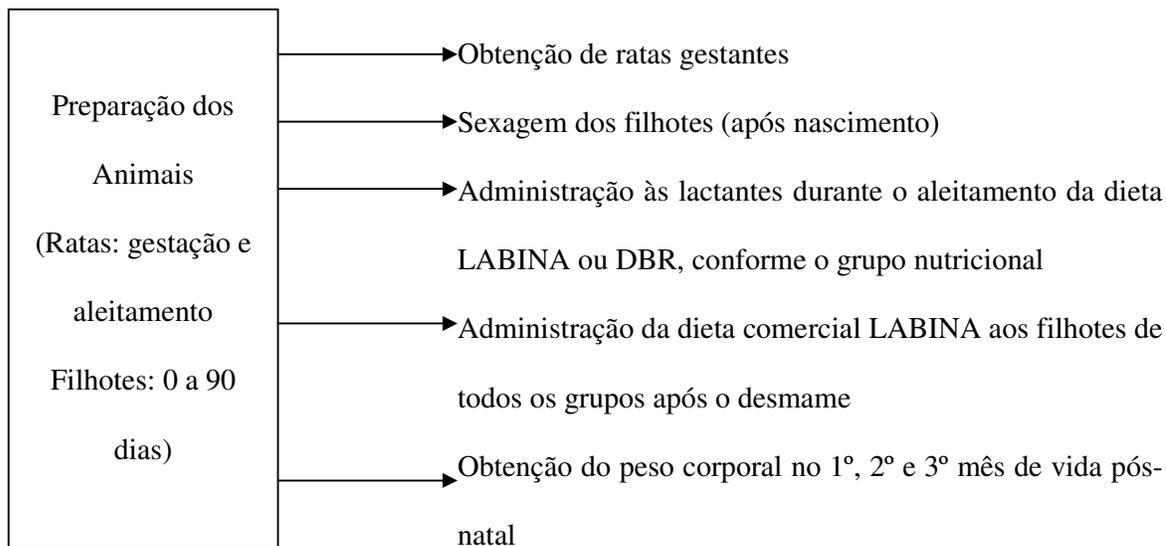


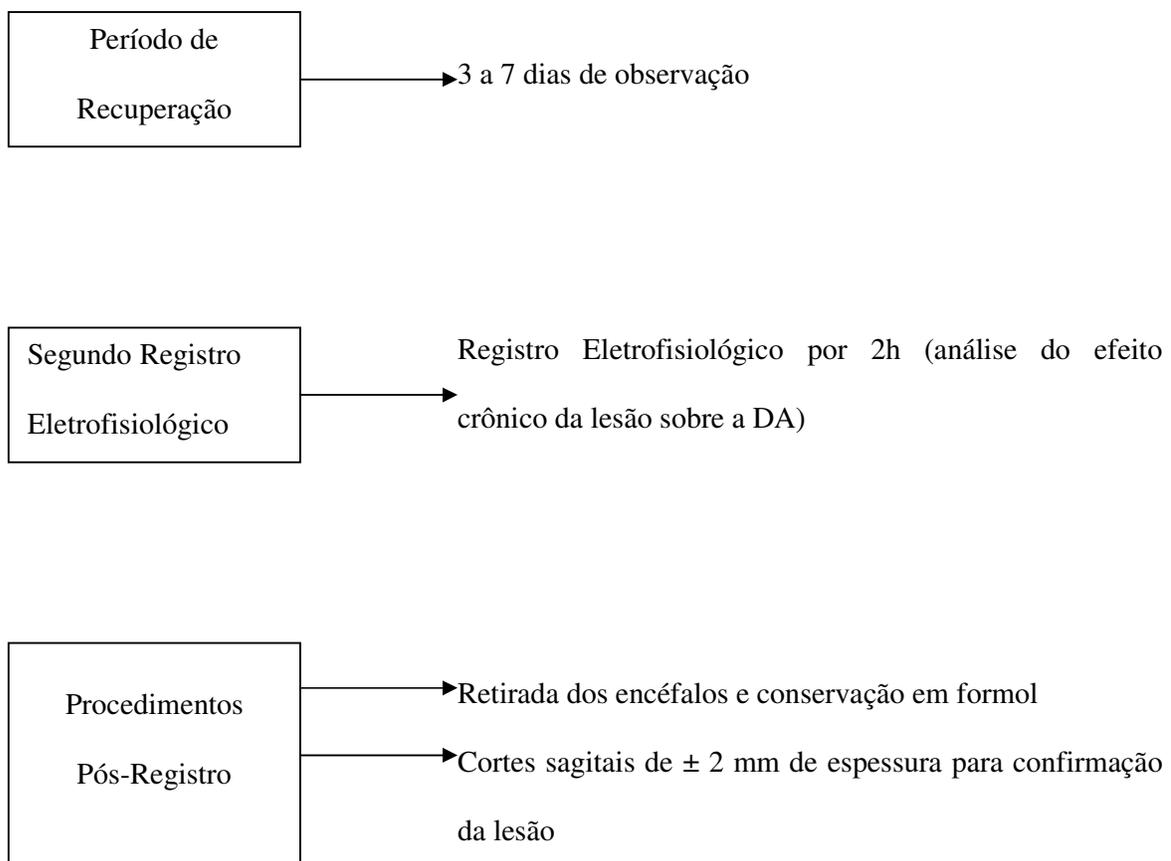
**Figura 2** Cortes coronais do encéfalo (de aproximadamente 2 mm de espessura) realizado em um animal bem-nutrido, em toda a extensão da lesão, com a finalidade de confirmar a lesão das fibras calosas.



**Figura 3** Cortes coronais do encéfalo, de aproximadamente 2 mm de espessura, realizado em um rato bem-nutrido lesionado na linha média (calosotomia).

#### 4.8 Etapas do Protocolo Experimental





## 4.9 Análise Estatística

O teste  $t$  pareado foi utilizado nos casos em que se comparou, no mesmo animal, os pesos corporais e as velocidades de propagação da DA antes e após à lesão cortical contralateral ou no corpo caloso. Os resultados foram considerados significantes nos casos em que  $p \leq 0,05$ .

Para as comparações inter-grupos, referentes aos efeitos do tratamento nutricional e da lesão cortical, sobre os pesos corporais foi utilizado a Análise de Variância (Anova). Os dados em que a Anova considerou haver diferenças significantes, foram submetidos ao Teste de Neuman-Keuls (evolução ponderal e pesos corporais no 1º e 2º registro), a fim de identificar quais grupos diferiram entre si. Foram considerados significantes os dados em que  $p \leq 0,05$ .

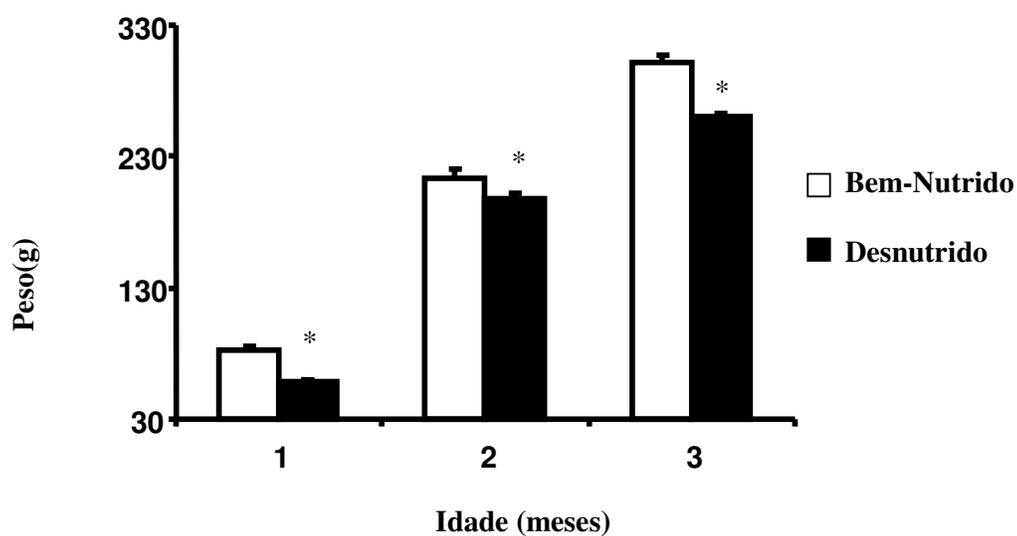
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Peso Corporal

A administração de DBR às mães durante a fase de aleitamento promoveu uma diminuição duradoura dos pesos corporais de seus filhotes quando comparado aos animais bem-nutridos (**Figura 4**).

Por ocasião da 2ª sessão de registro da DA (3-7 dias após a lesão cortical contralateral) todos os grupos apresentaram uma redução significativa no peso corporal, em comparação com os respectivos pesos antes da lesão ( $P \leq 0,05$ ; **Tabela 3**). Independente do estado nutricional dos animais, comparações realizadas até o 4º dia pós-operatório revelaram que a perda de peso corporal foi equivalente entre os grupos de uma mesma condição experimental (**Tabela 3**).

O tempo de recuperação após o procedimento cirúrgico pareceu ser menor no grupo controle (lesão fictícia) do que no grupo com lesão real. Esse período de recuperação foi estimado com base no tempo em que os animais permaneceram imóveis, sem se alimentar e sem ingerir água. As estimativas indicaram tempos de aproximadamente 40 – 48h para os grupos controles e de 60 - 72h para os grupos lesionados. Durante esse período, os animais receberam uma administração diária de uma solução contendo glicose (0,5g/10mL de água destilada) + cloreto de sódio (0,1g/10mL de água destilada) até eles conseguirem se alimentar e ingerir água espontaneamente.



**Figura 4** Evolução ponderal corporal de animais bem-nutridos e desnutridos obtidos no 1º, 2º e 3º mês de vida. As barras representam a média  $\pm$  epm. \* indica que os pesos corporais médios dos animais desnutridos foram significativamente menores que os animais bem-nutridos com a mesma idade ( $P \leq 0,05$ ). ANOVA seguida do teste Student-Neuman Keuls.

**Tabela 3** Pesos corporais médios  $\pm$  DP dos grupos Bem-nutridos: lesão fictícia (BN-LF), lesão contralateral (BN-LC), lesão na linha média (BN-LM), e dos grupos Desnutridos: lesão fictícia (D-LF) e lesão contralateral (D-LC), obtidos antes do procedimento cirúrgico (1º registro) e após período de recuperação – 3 a 7 dias (2º registro). O número de animais por grupo é dado entre parênteses. As letras minúsculas indicam valores significativamente diferentes ( $P \leq 0,05$ ) dos valores correspondentes nos grupos marcados com a mesma letra, na coluna da esquerda. \* indica que os valores médios dos pesos corporais pós-lesão foram significativamente menores que os valores pré-lesão no mesmo grupo experimental ( $P \leq 0,05$ ). Para a análise estatística entre os pesos antes e após a lesão cortical, foi utilizado o Teste *t* pareado; e para a análise da perda de peso corporal e comparação de peso entre os grupos, a ANOVA seguida do Teste de Neuman Keuls.

Grupos	Pesos Corporais (g)		Diferença no 4º dia de recuperação (g)
	1º registro (pré-lesão)	2º registro (3-7 dias após a lesão)	
<b>BN-LF (a)</b>	324,74 $\pm$ 34,73 (21)	294,71 $\pm$ 27,54* (21)	27,81 $\pm$ 19,26 (11)
<b>BN-LC (b)</b>	313,97 $\pm$ 26,12 (19)	270,73 $\pm$ 30,92* (19)	42,78 $\pm$ 18,20 (10)
<b>BN-LM (c)</b>	374,18 $\pm$ 24,88 (8)	298,58 $\pm$ 16,33* (8)	75,60 $\pm$ 13,76 (8)
<b>D-LF (d)</b>	279,05 $\pm$ 27,76 a (21)	251,65 $\pm$ 28,17*,a (21)	29,84 $\pm$ 16,18 (14)
<b>D-LC (e)</b>	272,17 $\pm$ 33,05 b (18)	229,66 $\pm$ 32,34 *,b (18)	40,62 $\pm$ 15,98 (12)

## 5.2 Velocidade de Propagação da DA

As **figuras 5 e 6** ilustram o ECoG e a variação lenta de voltagem de três animais adultos bem-nutridos e de dois desnutridos, respectivamente, no período basal, logo após a lesão e após a recuperação cirúrgica nas cinco condições experimentais: Bem- Nutridos (lesão fictícia, lesão contralateral e lesão na linha média) e Desnutridos (lesão fictícia e lesão contralateral).

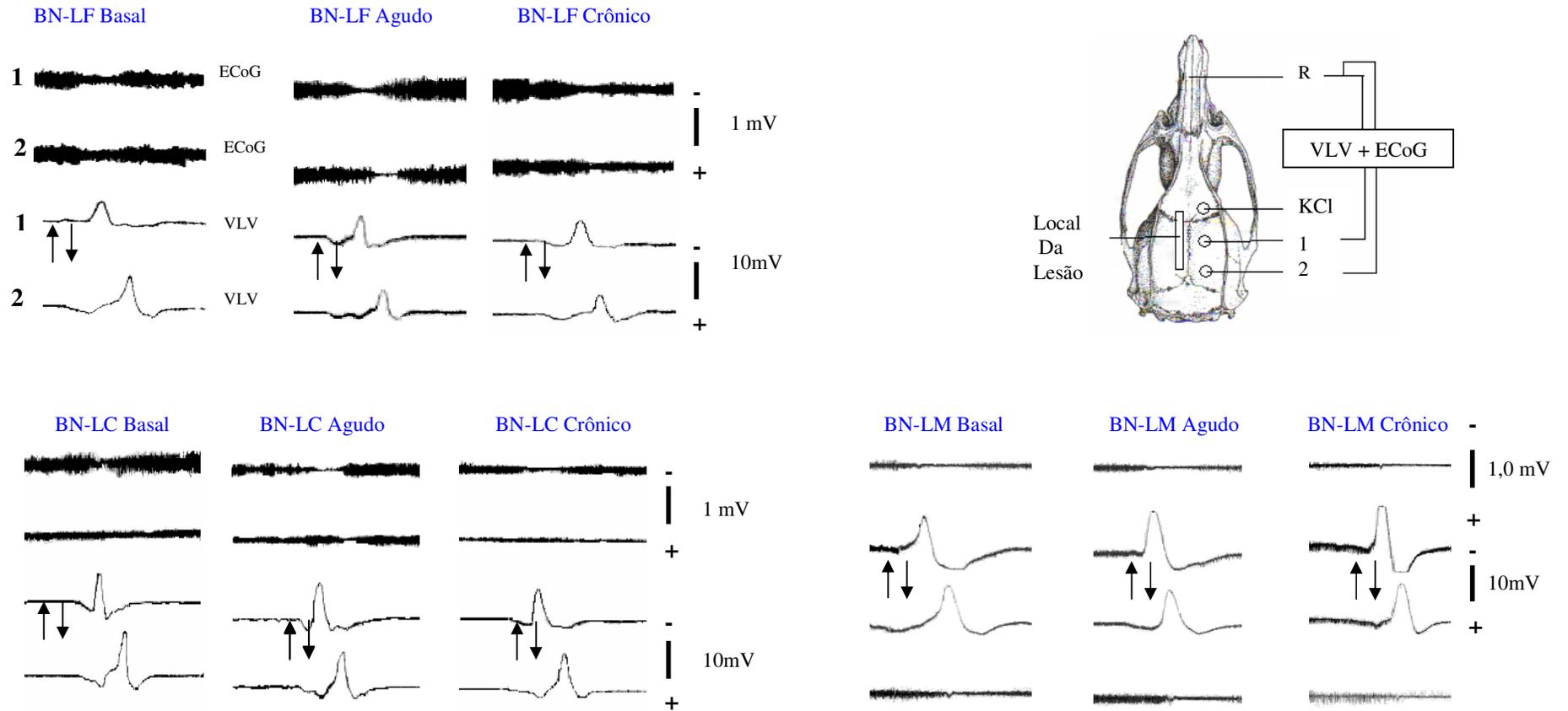
Todos os animais que foram submetidos à lesão cortical contralateral tiveram sua velocidade de propagação da DA aumentada logo após a lesão ( $P \leq 0,05$ ). Este aumento na velocidade persistiu até o 2º registro (realizado 3-7 dias após a lesão cortical), sugerindo que tal efeito seja duradouro ( $P \leq 0,05$ ). Comparações no mesmo animal, após a lesão mostraram que nenhuma alteração de velocidade da DA foi encontrada entre os 2 registros pós-lesão, separados por um período de 3-7 dias. (**Tabela 4**).

Em cada condição nutricional as velocidades basais foram semelhantes ( $P \geq 0,05$ ), sendo maiores nos desnutridos do que nos bem-nutridos ( $P \leq 0,05$ ). Estes resultados estão na **Tabela 4**.

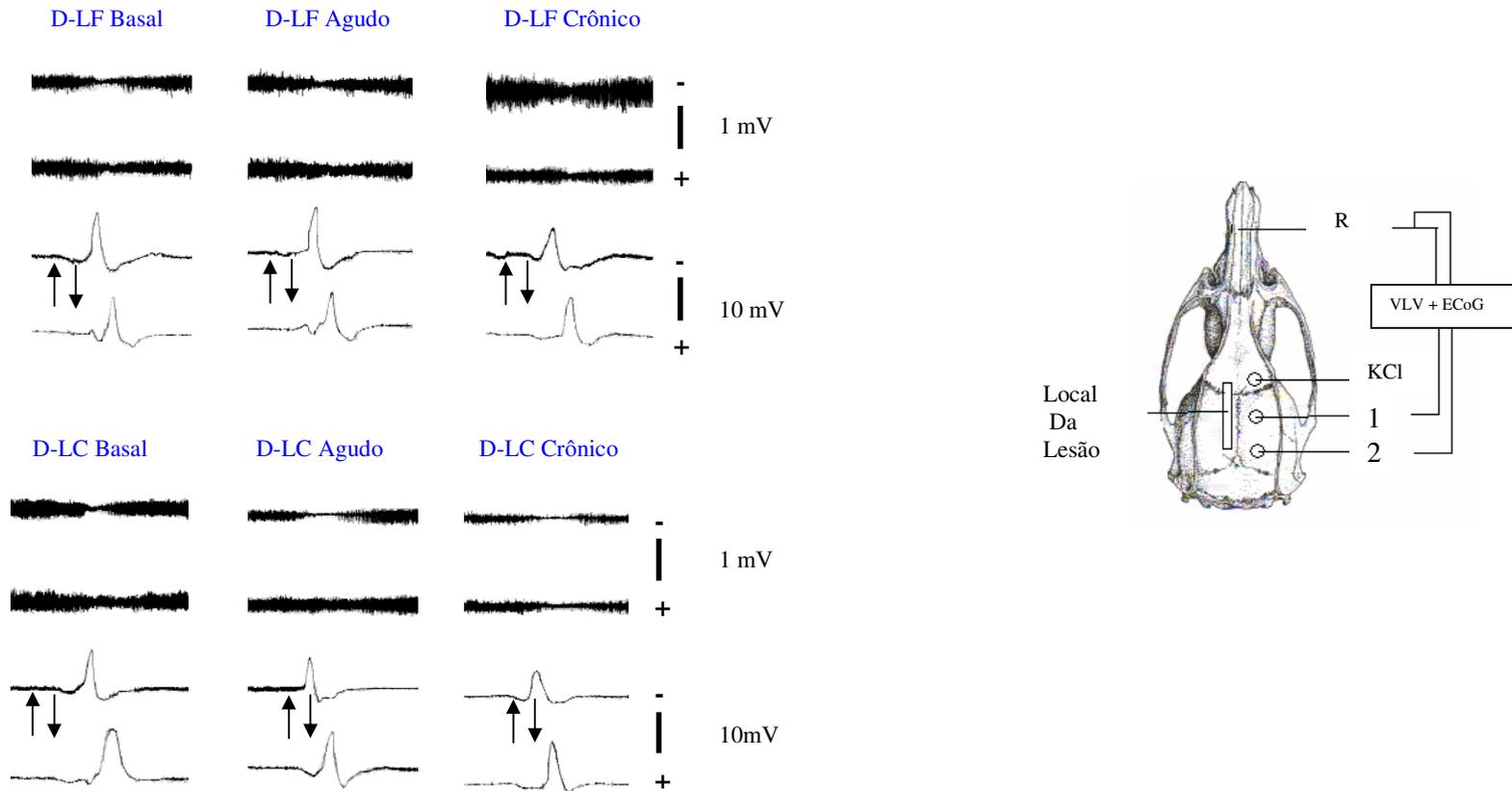
Nos animais bem nutridos, independente do procedimento utilizado para a lesão cirúrgica, ambos os grupos (**BN-LC** e **BN-LM**) modificaram similarmente as características da DA, a julgar pelo aumento significativo em suas velocidades em comparação com os valores pré-lesão no mesmo animal (**Tabela 4**).

**Tabela 4** Velocidades médias da Depressão Alastrante (mm/min)  $\pm$  DP antes, imediatamente após a lesão e 3-7 dias depois da lesão contralateral. Entre parênteses, é dado o número de animais por grupo. \* indica velocidades médias significativamente maiores que as velocidades controles dos mesmos animais (antes da lesão) ( $P < 0,05$ ). Teste *t* de Student pareado.

GRUPO	Velocidades (mm/min)		
	Antes da Lesão	Imediatamente Após a Lesão	3-7 dias Após Recuperação
<b>BN-LF</b>	3,35 $\pm$ 0,09 (21)	3,34 $\pm$ 0,10 (21)	3,35 $\pm$ 0,07 (21)
<b>BN-LC</b>	3,34 $\pm$ 0,09 (19)	4,03 $\pm$ 0,14* (19)	4,20 $\pm$ 0,48* (19)
<b>BN-LM</b>	3,45 $\pm$ 0,15 (8)	4,29 $\pm$ 0,11* (8)	4,30 $\pm$ 0,29* (8)
<b>D-LF</b>	4,12 $\pm$ 0,20 (21)	4,15 $\pm$ 0,22 (21)	4,13 $\pm$ 0,21 (21)
<b>D-LC</b>	4,08 $\pm$ 0,20 (18)	4,23 $\pm$ 0,29* (18)	4,39 $\pm$ 0,32* (18)



**Figura 5** Exemplos de registro eletrofisiológico (ECoG e variação lenta de voltagem [VLV]) na região parietal direita do córtex cerebral de três ratos adultos bem-nutridos que sofreram lesão fictícia, lesão contralateral (no hemisfério esquerdo) e lesão na linha média. Em cada um dos 3 exemplos, os traçados da esquerda (BN-LF, BN-LC e BN-LM basais), do centro (BN-LF, BN-LC e BN-LM agudo) e da direita (BN-LF, BN-LC e BN-LM crônico) mostram respectivamente registros no período antes da lesão, logo após e 3-7 dias após a lesão. As setas paralelas, no traçado, indicam o período de estimulação com KCl a 2% (1 minuto) na região frontal do mesmo hemisfério, para deflagrar a DA. Os números 1 e 2 à esquerda do traçado, indicam os pontos de registro, marcados com os mesmos números na ilustração da direita, que também mostra o local de aplicação do estímulo (KCl), o eletrodo de referência (R) sobre os ossos nasais e o local onde foi realizada a lesão no hemisfério esquerdo. As barras verticais indicam 10mV na VLV e 1mV no ECoG.



**Figura 6** Exemplos de registro eletrofisiológico (ECoG e variação lenta de voltagem [VLV]) na região parietal direita do córtex cerebral de dois ratos adultos desnutridos que sofreram lesão fictícia ou lesão contralateral (no hemisfério esquerdo). Em cada um dos 2 exemplos, os traçados da esquerda (D-LF e D-LC basal), do centro (D-LF e D-LC agudo) e da direita (D-LF e D-LC crônico) mostram respectivamente registros no período antes da lesão, logo após e 3-7 dias após a lesão. As setas paralelas, no traçado, indicam o período de estimulação com KCl a 2% (1 minuto) na região frontal do mesmo hemisfério, para deflagrar a DA. Os números 1 e 2 à esquerda do traçado, indicam os pontos de registro, marcados com os mesmos números na ilustração da direita, que também mostra o local de aplicação do estímulo (KCl), o eletrodo de referência (R) sobre os ossos nasais e o local onde foi realizada a lesão no hemisfério esquerdo. As barras verticais indicam 10mV na VLV e 1mV no ECoG.

## 6 DISCUSSÃO

Os dados obtidos no presente trabalho indicam que a lesão cortical com conseqüente seccionamento das fibras calosas aumentou significativamente a susceptibilidade à DA, a julgar pelas suas velocidades de propagação maiores que os dos controles. Esse efeito parece ser independente do estado nutricional dos animais, uma vez que a desnutrição não o aboliu.

### 6.1 Peso Corporal

A lesão cirúrgica afetou igualmente o peso corporal dos animais de uma mesma condição experimental após o período de recuperação cirúrgica, com exceção do grupo **BN-LM**, cuja perda de peso foi maior do que os demais grupos.

Os dados referentes ao peso corporal dos animais desnutridos do presente trabalho estão em consonância com o estudo de Rocha-de-Melo e Guedes (1997), os quais verificaram uma redução no peso corporal dos filhotes cujas mães receberam a DBR durante o aleitamento. Guedes *et al.* (2002) verificaram uma redução no peso corporal dos animais desnutridos pela DBR que desaparecia quando estes animais atingiam a vida adulta. No presente trabalho, a redução corporal dos animais desnutridos persistiu até a idade adulta. Todas essas evidências indicam que mesmo após a recuperação nutricional pela LABINA administrada após o desmame (21 dias pós-natal), o impacto da desnutrição precoce sobre o peso corporal pode continuar até a vida adulta. O impacto dessas alterações sobre o cérebro, poderia contribuir para a persistência dos efeitos sobre a DA.

## 6.2 Velocidade da DA e Influências Inter-Hemisféricas

Várias pesquisas já demonstraram que diversas condições como a epilepsia, a isquemia, a enxaqueca, o consumo de etanol e alterações nutricionais, entre outras, que são capazes de modificar a excitabilidade cerebral, também alteram a susceptibilidade cortical à DA (LEÃO, 1963; MARTINS-FERREIRA *et al.*, 1974; GUEDES, 2005). Dessa forma, têm-se associado variações na susceptibilidade cortical ao fenômeno da DA com mudanças na excitabilidade cortical. A atenuação das influências corticais contralaterais, realizada neste estudo, também alterou as características da DA, a julgar pelo aumento de sua velocidade de propagação em comparação com os valores pré-lesão, no mesmo animal.

O primeiro estudo relacionando a transmissão inter-hemisférica à DA foi desenvolvido por Leão em 1944 em coelhos adultos, nos quais estímulos elétricos fortes foram capazes de iniciar a DA no hemisfério contralateral ao hemisfério estimulado. Após a secção do corpo caloso, a DA deixou de ser deflagrada no hemisfério contralateral. Apesar do estudo de Leão ter demonstrado a possibilidade da DA ser iniciada no hemisfério contralateral ao estimulado, cabe ressaltar que na época nenhuma correlação foi feita a respeito da influência de um hemisfério sobre o outro.

Guedes e Do Carmo (1980) analisaram em coelhos, os efeitos de alterações iônicas do meio interno (redução das concentrações extracelulares de  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$ ) sobre a incidência, propagação e transferência inter-hemisférica da DA. Nessas condições, o córtex cerebral tornou-se mais susceptível à DA e ocorreu facilitação da transferência inter-hemisférica do fenômeno. Porém, quando as fibras calosas foram seccionadas, esta transferência foi abolida, apesar de cada hemisfério continuar susceptível à DA quando estimulado individualmente. Este resultado sugere que, em determinadas condições de excitabilidade cerebral alterada, as

fibras calosas podem desempenhar um importante papel na transferência de influências corticais contralaterais que levem à iniciação da DA no hemisfério não-estimulado. Além do mais, esta evidência aponta para uma possível participação indireta das fibras calosas nos mecanismos da DA. É possível, portanto, especular que após a secção das fibras calosas realizada no presente trabalho, a velocidade da DA foi alterada pela supressão de algum mecanismo inibidor contralateral envolvido em sua propagação.

No que se refere aos efeitos da lesão cortical contralateral sobre a propagação da DA, os presentes resultados demonstraram que, antes da lesão, todos os animais com o mesmo estado nutricional tiveram velocidades basais semelhantes, e que apenas os animais lesionados tiveram suas velocidades de propagação aumentadas, tanto na fase aguda (logo após a lesão cortical) como cronicamente (depois do período de recuperação de 3-7 dias). As velocidades dos animais bem-nutridos e desnutridos com “lesão fictícia” (composto por animais que passaram pelo mesmo estresse dos grupos lesionados, porém não sofreram lesão cortical contralateral) não diferiram dos valores médios dos animais controles em outros experimentos (EL-BACHÁ *et al.*, 1998; ROCHA-DE-MELO e GUEDES, 1997; VASCONCELOS *et al.*, 2004). Esta constatação permite afastar a hipótese de que o estresse “*per se*” seja a causa do aumento das velocidades da DA nos grupos lesionados, já que não houve diferença entre as velocidades após a lesão fictícia e as velocidades basais nos mesmos animais.

Independente do estado nutricional dos animais, alguns fatores podem ter contribuído direta ou indiretamente para o aumento da velocidade da DA, tais como: alterações na atividade glial, na atividade GABAérgica e serotoninérgica através do corpo caloso.

Tem sido proposto que a atividade glial interfere diretamente na DA. As células da glia participam da regulação do  $K^+$ , do pH extracelular e da transmissão sináptica (LARGO *et al.*, 1997). Portanto, alterações na densidade deste tipo celular poderiam levar, a longo prazo, a uma reorganização sináptica (WILSON *et al.*, 1990) e tornaria o tecido mais susceptível à

DA. Na hemidecorticação, por exemplo, ocorre degeneração neuronal e diminuição do crescimento axonal (VILLABLANCA *et al.*, 1986b; HOVDA e VILLABLANCA, 1990; VILLABLANCA *et al.*, 1993 a,b), o que leva a uma alteração nas células da glia. Uma alteração nesta estrutura, por sua vez, modifica a DA. A longo prazo, a lesão cortical realizada no presente estudo possivelmente também seria capaz de produzir alterações na glia, a julgar pelo fato que esta lesão induziria morte celular e reorganização sináptica. Contudo, as alterações na DA observadas no presente trabalho foram evidenciadas logo após a lesão cortical, o que limita a associação entre DA e alterações da atividade glial e sugere que outros fatores possam estar envolvidos.

O aumento da atividade GABAérgica (pela injeção intravenosa de diazepam) facilita a propagação da DA (GUEDES *et al.*, 1992; GUEDES e CAVALHEIRO, 1997). O bloqueio do receptor do GABA provocado por aplicação intravenosa de bicuculina e picrotoxina (antagonistas do GABA) produziu diminuição da velocidade da DA em ratos adultos bem-nutridos (GUEDES *et al.*, 1992). Estes autores também sugeriram que o sistema GABAérgico desempenhe diferentes papéis nas características da DA (aumento da velocidade e diminuição da sua amplitude). Tem sido proposta a participação desse neurotransmissor na diminuição da excitabilidade cortical após isquemia transitória contralateral (NEUMANN-HAEFELIN *et al.*, 1995) e após bloqueio isquêmico de nervo periférico (WERHAHN *et al.*, 2002). Entretanto, a sua participação na DA após a supressão das influências contralaterais ainda não está clara e necessita de mais investigações.

Nos resultados apresentados por Werhahn *et al.* (2002), a administração oral de lorazepam (LZP), um agonista do receptor do tipo GABA<sub>A</sub>, a indivíduos submetidos ao bloqueio isquêmico de nervo periférico produziu diminuição da excitabilidade no hemisfério contralateral ao hemisfério “deaferentado” pelo bloqueio isquêmico. Em virtude deste resultado, os autores levantaram a hipótese de que a atenuação da excitabilidade cortical era

produzida por inibição GABAérgica. A presença de receptores do tipo GABA<sub>A</sub> e para o glutamato nas células gliais do corpo caloso de camundongos foi constatada em trabalho de BERGER *et al.* (1992). Tendo em vista que o GABA é um neurotransmissor inibitório cerebral, é possível que este sistema possa estar envolvido na inibição inter-hemisférica da informação. Porém, devido à provável interação do GABA com outros neurotransmissores, não se pode afirmar que este seja o único sistema que participe dos mecanismos de transmissão inter-hemisférica da informação.

Segundo Schmidt *et al.* (2006), animais adultos lesionados por esfriamento no 1º dia de vida desenvolvem uma malformação em forma de um microsulco longitudinal localizado entre 1,5 a 2,5 mm da linha média com 3-5 mm de comprimento. Este tipo de lesão geralmente se estende até à substância branca, acarretando distúrbios na conectividade cortical. Ainda conforme esse trabalho, ocorre um prejuízo na inibição funcional do córtex somatosensório contralateral e uma ausência de inibição no córtex ipsilateral, que poderia ser explicada por uma alteração no balanceamento dos sistemas excitatórios e inibitórios (HAGEMANN *et al.*, 2000). Outros autores também evidenciaram distúrbios na conectividade das conexões transcalosas (ROSEN *et al.*, 1989; GIANNETTI *et al.*, 1999), cortico-talâmicas (ROSEN *et al.*, 2000) e das fibras cortico-corticais (GIANNETTI *et al.*, 2000).

Devido a semelhança na morfologia da lesão do presente estudo com aquele desenvolvido por SCHMIDT *et al.* (2006), e tendo em vista que as lesões por esfriamento causam, na maioria das vezes, lesão de substância branca, é possível que a lesão cortical contralateral do presente trabalho, também tenha influenciado o balanço entre as influências transcalosas excitatórias e inibitórias. No que se refere à propagação da DA, a lesão cortical pode ter levado a um prejuízo na inibição funcional cortical contralateral, visto que ocorreu uma facilitação da DA após a supressão das influências corticais contralaterais.

Convém ressaltar que apesar de o corpo caloso também possuir fibras excitatórias, a maioria dos estudos destaca o papel inibidor do corpo caloso sobre as transferências inter-hemisféricas da informação (FERBERT *et al.*, 1992; CLARKE e ZAIDEL, 1994; HANAJIMA *et al.*, 2001, BLOOM e HYND, 2005). Outros autores também evidenciaram inibição inter-hemisférica após estimulação do córtex motor de animais, porém, esta inibição era precedida por facilitação mínima (nem sempre presente) (CHANG, 1953; ASANUMA e OKAMOTO, 1959, 1962; MATSUNAMI e HAMADA, 1984).

Um outro possível mecanismo para explicar os efeitos da lesão cortical sobre a DA, a longo prazo, envolveria a participação do sistema serotoninérgico. Foi demonstrado que o sistema serotoninérgico desempenha um papel inibidor sobre a DA. Esta tem a sua propagação reduzida após o tratamento com drogas que aumentam a atividade serotoninérgica, tais como a d-fenfluramina (CABRAL-FILHO *et al.*, 1995), o citalopram (GUEDES *et al.*, 2002) e a fluoxetina (AMÂNCIO-DOS-SANTOS *et al.*, 2006). Mayberg *et al.* (2003) verificaram que lesões no córtex esquerdo produziram diminuição bilateral dos receptores da serotonina (do tipo S<sub>2</sub>) no córtex frontal e peri-rinal. Esta diminuição foi maior no córtex contralateral à lesão. Apesar deste sistema não ter sido investigado no presente trabalho, é possível que a lesão cortical também possa ter diminuído bilateralmente os receptores serotoninérgicos. Dessa forma, a diminuição destes receptores resultaria num possível papel facilitatório sobre a DA. Porém, este resultado foi obtido 30 dias após a lesão, enquanto que, no presente trabalho, o aumento da velocidade da DA foi verificado logo após a lesão cortical. A curto prazo, não há, pelo o que se tem conhecimento, evidências sugerindo a participação deste sistema nos efeitos, sobre a DA, da supressão das influências corticais contralaterais.

Com base nos achados da literatura, outros fatores poderiam estar envolvidos no aumento da velocidade de propagação da DA observado no presente trabalho, além da lesão das fibras calosas, subsequente à lesão cortical:

1) A estimulação elétrica causada pelo bisturi elétrico no momento da lesão (HANAJIMA *et al.*, 2001);

2) O dano tecidual na região do hemisfério lesado (esquerdo) (BUCHKREMER-RATZMANN *et al.*, 1996; NEUMANN-HAEFELIN *et al.*, 2000);

Estas duas condições levariam a um aumento da excitabilidade em áreas homotópicas do hemisfério contralateral (CHANG, 1953; ASANUMA e OKAMOTO, 1959, 1962; BUCHKREMER-RATZMANN *et al.*, 1996; NEUMANN-HAEFELIN e WILTE, 2000; HANAJIMA *et al.*, 2001; MURASE *et al.*, 2004). Segundo Hanajima *et al.* (2001), a estimulação elétrica transcraniana do córtex motor de um hemisfério produz dois tipos de efeitos no hemisfério contralateral: facilitação precoce e inibição tardia. A estimulação de um hemisfério produz um efeito facilitatório no hemisfério contralateral quando a resposta a este estímulo é de até 0,1mV. No entanto, quando o estímulo produz uma resposta acima desta voltagem, uma inibição é observada. Geralmente quando ocorre inibição, ela mascara a facilitação. Estes dois tipos de resposta também foram constatados por Chang (1953); e Asanuma e Okamoto (1959; 1962) em animais experimentais após a estimulação de um hemisfério. O aumento da excitabilidade cortical, como mencionado, poderia ser um dos fatores que estaria relacionado com o aumento da velocidade da DA. Porém, foi comprovado, no presente trabalho, que a lesão das fibras calosas na linha média (grupo **BN-LM**) também produziu, no hemisfério direito, um aumento da velocidade da DA, semelhante àquele causado pela lesão cortical contralateral. Portanto, podemos inferir que este aumento seja devido à lesão das fibras calosas e não devido à estimulação de áreas homotópicas do hemisfério esquerdo.

A estimulação elétrica repetitiva de uma pequena região cortical de um hemisfério produz aumento da excitabilidade do mesmo, e impede que uma DA, deflagrada a uma certa distância, invada a região estimulada (KOROLEVA e BURES, 1980). Na interpretação desses

autores, a estimulação elétrica, ao mesmo tempo em que produz aumento da excitabilidade, também promoveria um tipo de adaptação metabólica, com aumento da eficiência tampadora da glia, que diminuiria a concentração do potássio extracelular no hemisfério estimulado, e dificultaria a propagação da DA. Uma situação parecida à acima descrita foi mencionada por Leão (1944). Ele observou que a área estimulada para deflagrar a DA permanece, por algum tempo, eletricamente inativa, e que durante este período uma nova DA não poderia ser iniciada enquanto a região ainda estivesse estimulada. Com base nestes achados, é possível, especular que a lesão cortical realizada neste trabalho poderia *per se* ter aumentado a excitabilidade no local da lesão. Porém, não se pode afirmar que esta lesão também teria aumentado a excitabilidade no hemisfério contralateral (de registro).

Fregni *et al.* (2005) mostraram que a estimulação elétrica epidural repetitiva em um hemisfério com 1Hz e com 20Hz produzem, 2 a 5 dias após a estimulação, um aumento significativo da velocidade da DA no hemisfério estimulado. Adicionalmente, a estimulação com 20Hz (mas não com 1Hz) também promoveu um aumento na velocidade da DA no hemisfério contralateral ao hemisfério estimulado. Ao contrário daquele estudo, no presente trabalho suprimiu-se os estímulos oriundos do hemisfério contralateral e a DA foi investigada. Interessantemente, tanto a lesão (presente estudo) como a estimulação com 20Hz (FREGNI *et al.*, 2005) tiveram o mesmo efeito (aumento da velocidade da DA). Os mecanismos envolvidos nestas duas situações experimentais ainda não estão claros, mas pode-se especular que eles sejam diferentes, embora tenham provocado efeitos na mesma direção.

A estimulação magnética transcraniana do córtex motor de um hemisfério produz diminuição da atividade eletromagnética originada no córtex motor contralateral (FERBERT *et al.*, 1992). No entanto, estes autores relatam ainda a existência de influências facilitatórias entre córtices motores dos dois hemisférios. Convém ressaltar que qualquer que seja o método

utilizado para estudar as influências inter-hemisféricas, as pesquisas reforçam a importância do corpo caloso na transferência inibitória ou facilitatória entre os córtices.

Shimizu *et al.* (2000), ao estudar pacientes epiléticos submetidos à hemisferectomia, observaram um aumento da excitabilidade do córtex motor do hemisfério remanescente, não acometido pela epilepsia. A hemisferectomia, bem como a lesão realizada no presente trabalho promovem a supressão da transmissão inter-hemisférica da informação. Caso estes procedimentos produzam o mesmo efeito sobre o hemisfério não-lesado, é possível que a lesão cortical do presente estudo também aumente a excitabilidade cortical. Entretanto, são necessárias mais investigações para comprovar tal correlação.

A velocidade da DA continuou aumentada no hemisfério não-lesado após um período pós-lesão até 7 dias. Tal resposta sugere que o efeito ocasionado pela lesão das fibras calosas seria duradouro, e que eventuais mecanismos compensatórios durante este período teriam sido insuficientes para estabilizar a propagação da DA, provavelmente por meio de mudanças na excitabilidade cortical. A realização de experimentos com maior tempo de recuperação se faz necessária para verificar se outras vias ou mecanismos começariam a atuar mais tardiamente com intuito de reorganização funcional de cada hemisfério após um período pós-lesão mais prolongado.

### **6.3 Efeitos da Desnutrição sobre a Lesão Cortical e a Velocidade da DA**

Conforme citado anteriormente, a DBR é uma dieta eficaz em produzir desnutrição experimental. Ela apresenta baixos teores de proteínas, lipídeos, vitaminas e sais minerais. A maior parte da proteína desta dieta é de origem vegetal, que tem valor biológico menor do que

as de origem animal (TEODÓSIO *et al.*, 1990). A desnutrição provocada no período de maior susceptibilidade cerebral, que corresponde ao período de crescimento rápido do cérebro (PCCR), acarreta alterações duradouras no peso corporal e cerebral (ANDRADE *et al.*, 1990). Além disso, ela afeta os processos de gliogênese (MORGANE *et al.*, 1993); mielinização das fibras nervosas (GAMBETTI *et al.*, 1974); aumenta a susceptibilidade à epilepsia (STERN *et al.*, 1974; TABER *et al.*, 1980) e reduz a multiplicação das células gliais (MORGANE *et al.*, 1993). Esses efeitos atingem a DA, no rato, com mais intensidade na 3ª semana pós-natal (ROCHA-DE-MELO e GUEDES, 1997), período este em que os animais do presente estudo ainda estavam recebendo a DBR.

Tem sido sugerido que a mielinização atuaria como barreira, dificultando a propagação da DA (DE LUCA *et al.*, 1977; SANTOS-MONTEIRO *et al.*, 2000). A desnutrição, por sua vez, reduz a mielinização e aumenta a velocidade de propagação da DA (GAMBETTI *et al.*, 1974). Portanto, é razoável supor que o aumento verificado nas velocidades basais da DA nos animais desnutridos do presente estudo tenha a participação dos efeitos da desnutrição sobre os processos de gliogênese, mielinização e maturação cerebral.

Os resultados deste trabalho, no que diz respeito à desnutrição e à velocidade de propagação da DA, mostraram que apesar da desnutrição *per se* ter aumentado a velocidade da DA nos animais desnutridos, ela não mascarou o efeito da lesão cortical contralateral sobre a DA, uma vez que suas velocidades de propagação, pós-lesão e após um período de recuperação, foram maiores que seus valores pré-lesão, no mesmo animal.

Um aumento da latência para as respostas evocadas por estimulação elétrica transcalosa tem sido descrito em ratos jovens desnutridos precocemente com uma dieta contendo 8% de caseína (BRONZINO *et al.*, 1975; FORBES *et al.*, 1975). Respostas corticais evocadas por estimulação periférica também apresentam latências aumentadas em ratos desnutridos jovens, mas não em adultos (MORGANE *et al.*, 1978). Ambos os experimentos demonstram que a

pequena quantidade de proteína de boa qualidade na dieta aumenta a latência das respostas evocadas através do corpo caloso. É possível que estes resultados sejam decorrentes de uma diminuição na mielina do corpo caloso produzida pela desnutrição.

#### **6.4 Considerações Finais**

Em suma, os resultados obtidos neste trabalho nos permitem afirmar que a supressão das influências corticais contralaterais promove um aumento da velocidade da DA no hemisfério direito de animais bem-nutridos e desnutridos. A presença do efeito por até 7 dias após a lesão sugere que tal efeito seja duradouro. Pode-se sugerir que, da mesma forma que vários processos estão envolvidos no mecanismo da DA, a influência de um hemisfério sobre o outro poderia também ser representada por vários mecanismos atuando na propagação da informação através do corpo caloso. Os mecanismos pelos quais a ausência da influência cortical contralateral favorece a velocidade de propagação da DA ainda não estão bem esclarecidos e necessitam de mais investigações.

## 7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, são apresentados as seguintes conclusões:

1. O aumento na velocidade de propagação da DA no hemisfério direito observado em todos os animais após a lesão cortical contralateral sugere um papel inibidor da atividade cortical contralateral sobre a DA.

2. A persistência do efeito da lesão cortical contralateral sobre a DA por até 7 dias após a lesão sugere que tal efeito seja duradouro

3. O efeito facilitador sobre a DA, mencionado acima, parece depender da interrupção das conexões calosa, uma vez que a calosotomia reproduziu tal efeito.

4. A lesão cortical contralateral aumentou a susceptibilidade do tecido cortical à DA em animais bem-nutridos e desnutridos, indicando que tal efeito independe do estado nutricional.

## 8 PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos neste trabalho nos permitem sugerir algumas perspectivas para a realização de experimentos futuros com o intuito de dar continuidade ao tema abordado:

1. Investigar os efeitos da lesão cortical em ratos jovens com o corpo caloso não completamente organizado funcionalmente, com finalidade de obter novas informações a respeito da plasticidade e reorganização cerebrais.

2. Analisar os efeitos de lesões parciais do hemisfério cerebral contralateral sobre a DA, na idade adulta.

3. Realizar estudo comparativo entre o método de supressão da atividade cortical contralateral do presente trabalho e outros métodos de supressão transitória, como por exemplo, o resfriamento ou a aplicação cortical tópica de anestésicos.

4. Utilizando-se da mesma técnica desenvolvida neste trabalho, estudar possíveis efeitos de um período mais prolongado de recuperação pós-cirúrgica.

5. Avaliar os efeitos da calosotomia sobre a DA, registrando-a em ambos os hemisférios, antes e após a lesão.

6. Estudar as projeções calosas com traçadores de alta resolução aplicados 15 dias antes da lesão, associando C-FOS e marcadores para GAD e glutamato.

7. Testar as hipóteses neuroquímicas discutidas, como GABA e serotonina, do ponto de vista farmacológico para discutir o efeito agudo da lesão sobre a DA.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOITIZ, F.; SCHEIBEL, A.B.; FISHER, R.S.; ZAIDEL, E. Individual Differences in Brain Assymetries and Fiber Composition in the Human Corpus Callosum. *Brain Research.*, v.598, p. 154-161, 1992b.

ABOITIZ, F.; IDE, A. Anatomical Asymmetries in Languague-related Cortex and their Relation to Callosal Function. In: STEMMER, E.; WHITAKER, H (eds) Handbook of Neurolinguistics. New York: *Academic Press*. p. 393-404, 1998.

ABOITIZ, F.; LOPEZ, J.; MONTIEL, J. Long Distance Communication in the Human Brain: Timing Constraints for Inter-Hemispheric Synchrony e the Origin of Brain Lateralization. *Biol. Res.*, v. 36, p. 89-99, 2003.

ABOITIZ, F.; MONTIEL, J. One Hundred Million Years of Interhemispheric Communication: The History of the Corpus Callosum. *Braz. J. of Med. Biol. Res.*, v. 36, p. 409-420, 2003.

ABOITIZ, F.; SCHROTER, C. Relative Size versus Controlling for Size: Interpretation of Rations in Research on Sexual Dimorphism in the Human Corpus Callosum. *Current Antropology*. v. 46, p. 262-263, 2005. (Comentários).

ALMEIDA, S.S.; DUNTAS, L.H.; DYE, L.; NUNES, M.L.; PRASSAD, C.; ROCHA, J.B.T.; WAINWRIGHT, P.; ZAIA, C.T.B.V.; GUEDES, R.C.A. Nutrition and Brain Function: A Multidisciplinary Virtual Symposium. *Nutritional Neuroscience*. v. 5, p. 311-320, 2002.

AMÂNCIO-DOS-SANTOS, A.; PINHEIRO, P. C. F; LIMA, D. S. C.; OZIAS, M. G.; OLIVEIRA, M. B.; GUIMARÃES, N. X.; GUEDES, R.C.A. Fluoxetine Inhibits Cortical Spreading Depression in Weaned and Adult Rats Suckled Under Favorable Lactation Conditions. *Experimental Neurology*, 2006 (*in press*).

ANDRADE, A.F.D.; GUEDES, R.C.A.; TEODÓRIO, N.R. Enhanced Rate of Cortical Spreading Depression due to Malnutrition: Prevention by Dietary Protein Supplementation. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.23, p. 889-893, 1990.

ANTHONY, L.E.; EDOZIEN, J.C. Experimental Protein and Energy in the Rat. *J. Nutr.*, v. 105, p. 631-648, 1975.

ANTONINI, A.; BERLUCCHI, G.; MARZI, C.A., SPRAGUE, J.M. Importance of Corpus Callosum for Visual Receptive Fields of the Single Neurons in Cat Superior Colliculus. *J. Neurophysiol.*, v. 42, p. 137-152, 1979.

ASANUMA H.; OKAMOTO, K. Unitary Study on Evoked Activity of Callosal Neurons and its Effect on Pyramidal Tract Cell Activity on Cats. *Japanese Journal of Physiology.*, v.9, p. 437-483, 1959.

ASANUMA, H.; OKUDA, O. Effects of Transcallosal Volleys on Pyramidal Tract Cell Activity of Cat. *Journal of Neurophysiology.*, v.25, p.198-208, 1962.

BERGER, T.; WALTZ, W.; SCHNITZER, J.; KETTENMANN, H. GABA- and Glutamate-Activated Currents in Glial Cells of the Mouse Corpus Callosum Slice. *J. Neurosci. Res.* v. 32, p. 21-27, 1992.

BERLUCCHI, G.; AGLIOTI, S.; MARZI, C.A.; TASSINARI, G. Corpus Callosum and Simple Visuomotor Integration. *Neuropsychology*, v.33, p. 923-936, 1995.

BLOOM, J.S.; HYND, G.W. The role of the Corpus Callosum in Interhemispheric transfer of Information: Excitation or Inhibition? *Neuropsychology Review.* v.15, p. 59-71, 2005.

BRONZINO, J.; MORGANE, P.J.; FORBES, W.B.; STERN, W.C.; RESNICK, O. Ontogeny of Visual Evoked Responses in Rats Protein-Deprived During Development.. *Biological Psychiatry.* v. 10, p. 175-184, 1975.

BUCHKREMER-RATZMANN, I; AGUST, M.; HAGEMANN, G; WITTE, O.W. Electrophysiological Transcortical Diaschisis After Cortical Photothrombosis in Rat Brain. *Stroke.* v. 27, p. 1105-1111, 1996.

BURES, J.; BURESOVÁ, O.; KRIVANEK, J. The Mechanism and Applications of Leão's Spreading Depression of Electroencephalographic Activity. *Academia*, Prague. 1974.

BURES, J.; SCHARZENFIELD, I.; BROZEK, G. Blockade of Cortical Spreading Depression by PicROTOXIN Foci of Paraxysmal Activity. *Epilepsia*. v.16, p. 111-118, 1975.

CABRAL-FILHO, J.E.; CASTRO, R.M.; TEODÓSIO, N.R. Convulsive Hiperresponsiveness of Rat Fed the Basic Regional Diet (RDB). *Proceedings of the International Symposium of Nutrition*. v.1, p. 27, 1986 (Abstract).

CABRAL-FILHO, J.E.; TRINDADE-FILHO, E.M.; GUEDES, R.C.A. Effect of d-fenfluramine on Cortical Depression in Rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.28, p.347-350, 1995.

CAMPBELL, A.L.; BOGEN, J.E.; SMITH, A. Disorganization and Reorganization of the Cognitive and Sensorimotor Functions in Cerebral Commissures and Cerebral Hemispheres in Man. *Brain*. v. 104, p. 493-511, 1981.

CHANG, H.T. Cortical Response to Activity of Callosal Neurons. *Journal of Neurophysiology*., v.16, p. 117-131, 1953.

CLARKE, J.M.; ZAIDEL, E. Anatomical-behavioral Relationships: Corpus Callosum Morphometry and Hemispheric Specialization. *Behav. Brain Res.*, v. 64, p. 185-202, 1994.

CLOSA, S.; PORTELA, M.L.; RIO, M.E.; SANAHUJA, J.C. Changes in Muscle and Brain Electrolytes in Rats Fed Natural Imbalanced Diets. *J. Nutr.* v. 104, p. 1381-1388, 1974.

COLOMBO, J.P.; CERVANTES, H.; KOKOROVIC, M.; PFISTER, V.; PERRITAZ, R. Effects of Different Protein Diets on the Distribution of Amino Acids in Plasma, Liver and Brain in the Rat. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v.36, p. 23-33, 1992.

COUTINHO, E. de M. Relações Hospedeiro-Parasito na Esquistossomose Mansonica, em Função da Dieta Básica Regional (Estudo Epidemiológico e Anatómo-Patológico). Doctoral Thesis. Universidade Federal de Pernambuco, 1976.

DE LUCA, B.; CIOFFI, L.A.; BURES, J. Cortical and Caudate Spreading Depression as an Indicator of Neural Changes Induced by Early Malnutrition in Rats. *Activitas Nervosa Superior*. v. 19, p. 130-131, 1977.

DI LAZZARO, V.; OLIVIERO, A.; PROFICE, P.; INSOLA, A.; MAZZONE, P.; TONALI, P. ET AL. Direct Demonstration of Interhemispheric Inhibition of the Human Motor Cortex Produced by Transcranial Magnetic Stimulation. *Exp. Brain. Res.*, v. 124, p. 520-524, 1999.

DJAVANDIAN, R.L.; WIELKOPOLSKA, E.; TURLEJSKI, K. Neonatal Depletion of Serotonin Increases the Numbers of Callosally projecting Neurons in Cat Visual Areas 17 and 18. *Neuroscience Letters*. v. 351, p. 91-94, 2003.

DOBBING, J. Vulnerable Periods in Developing Brain. In: Applied Neurochemistry. A.N. Darison e J. Dobbing (ed), Blackwell, Oxford. p. 287-316, 1968.

DORION, A.A.; CHANTOME, M.; ZOUAOU, A.; MARSAULT, C.; CAPRON, C.; DUYME, M. Hemispheric Asymmetry and Corpus Callosum Morphometry: a Magnetic Resonance Imaging Study. *Neurosci. Res.*, v. 36, p. 9-13, 2000.

ECCLES, J.C. *O Conhecimento do Cérebro*. São Paulo: Atheneu, 1979. p. 218-228.

EL-BACHÁ, R.S.; LIMA-FILHO, J.L.; GUEDES, R.C.A. Dietary Antioxidant Deficiency Facilitates Cortical Spreading Depression Induced by Photoactivated Riboflavin. *Nutritional Neuroscience*, v.1, p. 205-212, 1998.

ELIASSEN, J.C.; BAYNES, K.; GAZZANIGA, M.S. Anterior and Posterior Callosal Contributions to Simultaneous Bimanual Movements of the Hands and Fingers. *Brain*. v.123, p. 2501-2511, 2000.

FABRI, M.; POLONARA, G.; PESCE, M.D., QUARTRINI, A.; SALVOLINI, U.; MANZONI, T. Posterior Corpus Callosum and Interhemispheric Transfer of Somatosensory Information: an fMRI and Neuropsychological Study of a Partially Callosotomized Patient. *J. Cogn. Neurosci.* v. 13, p. 1071-1079, 2001.

FABRI, M.; PESCE, M.D.; PAGGI, A.; POLONARA, G.; BARTOLINI, M.; SALVOLINI, U.; MANZONI, T. Contribution of Posterior Corpus Callosum to the Interhemispheric Transfer of Tactile Information. *Cognitive Brain Research*. v.24, p. 73-80, 2005.

FERBERT A.; PRIORI, A.; ROTHWELL, J. C.; DAY, B. L.; COLEBATCH, J. G.; MARSDEN, C. D. Interhemispheric Inhibition of the Human Motor Cortex. *Journal of Physiology.*, v. 453, p. 525-546, 1992.

FERNANDEZ, V.; ADARO, L.; SANHUEZA-TSUTUMI, M.; INZUNGA, O.; BRAVO, H. Early-Life Polysensorial Stimulation and Nutrition: Topographic Levels of Suscetibility in the Rat Visual CórteX. *Biology of the Neonate.* v. 71, p. 265-276, 1997.

FORBES, W.B.; RESNICK, O.; STERN, W.C.; BRONZINO, J.D.; MORGANE, P.J. The Effect of Chronic Protein Malnutrition on Trans-callosal Evoked Responses in the Rat. *Developmental Psychobiology.* v.8, p. 503-509, 1975.

FREGNI, F.; MONTE-SILVA, K.K.; OLIVEIRA, M.B.; FREEDMAN, S.D.; PASCUAL-LEONE, A.; GUEDES, R.C.A. Lasting Accelerative Effects of 1Hz and 20Hz Electrical Stimulation on Cortical Spreading Depression: Relevance for Clinical Applications of Brain Stimulation. *European Journal of Neuroscience.*, v.21, p. 2278-2284, 2005.

FUNNEL, M.G.; CORBALLIS, P.M.; GAZZANIGA, M.S. Cortical and Subcortical Interhemispheric Interactions Following Partial and Complete Callosotomy. *Arch. Neurol.* v. 57, p. 185-189, 2000.

GALABURDA, A.M.; ROSEN, G.D.; SHERMAN, G.F. Individual Variability in Cortical Organization: Its Relationship to Brain Laterality and Implications to Function. *Neuropsychology.* v. 28, p. 529-546, 1990a.

GALABURDA, A.M.; SHERMAN, G.F.; ROSEN, G.D.; ABOITIZ, F.; GESCHWIND, N. Developmental Dyslexia: Four Consecutive Patients with Cortical Abnormalities. *Annals of Neurology*. v. 18, 222-233, 1990b.

GAMBETTI, P.; GAMBETTI, L. A.; RIZZUTO, N.; SHAFER, B.; PLAFF, L. Synapses and Malnutrition: Quantitative Ultrastructural Study of Rat Cerebral Cortex. *Exp. Neurol.*, v.43, p. 464-473, 1974.

GESCHWIND, N. Disconnection Syndromes in Animal and Man. *Brain*. v. 88, p. 237-294, 585-644, 1965.

GESCHWIND, N.; LEVISTSKY, W., Human Brain: Left-Right Asymmetries in Temporal Speech Region. *Science*. v.16, p. 267-275, 1968.

GIANNETTI, S.; GAGLINI, P.; GRANATO, A.; Di ROCCO, C. Organization of Calosal Connections in Rats with Experimentally Induced Microgyria. *Child's Nerv. Syst.* v. 15, p. 444-448, 1999.

GIANNETTI, S.; GAGLINI, P.; Di ROCCO, F.; GRANATO, A. Organization of Cortico-Cortical Associative Projections in Rat Model of Microgyria. *NeuroReport*. v. 11, p. 2185-2189, 2000.

GORDON, H. W.; BOGEN, J.E.; SPERRY, R.W. Absence of Disconnection Syndrome in Two Patients with Partial Section of the Neocommissures. *Brain*. v. 94, p. 327-336, 1971.

GRANTHAM-McGREGOR, S.M; POWELL, C.A; WALKER, S.P.; HIMES, J.H. Nutritional Supplementation, Psychosocial Stimulation, and Mental Development of Stunted Children: the Jamaican Study. *The Lancet*. v. 338, p. 1-5, 1991.

GUEDES, R.C.A.; DO CARMO, R.J. Influence of the Ionic Disturbances Produced by Gastric Washing on Cortical Spreading Depression. *Exp. Brain. Res.*, v.39, p. 341-349, 1980.

GUEDES, R.C.A. On Some Conditions that Influence Cortical Spreading Depression. *Acad. Brasil. Ciênc.*, v.56, p. 445-455, 1984.

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.*, v.20, p.639-642, 1987a.

GUEDES, R.C.A.; AZEREDO, F.A.M.; HICKS, T.P.; CLARKE, R.J.; TASHIRO, T. Opioid Mechanisms Involved in the Slow Potential Change and Neuronal Refractoriness During Cortical Spreading Depression. *Exp. Brain Res.*, v.69, p. 113-118, 1987b.

GUEDES, R.C.A.; ANDRADE, A.F.D.; CAVALHEIRO, E.A. Excitatory Amino Acids and Cortical Spreading Depression. *Frontiers in Excitatory Amino Acid Research*, v. 20, p.667-670, 1988.

GUEDES, R.C.A.; CABRAL-FILHO, J.E.; TEODÓSIO, N.R. GABAergic Mechanisms Involved in Cortical Spreading Depression in Normal and Early Malnourished Rats. *Exp. Brain. Research*, v. 23, p.17-26, 1992.

GUEDES, R.C.A.; AMORIM, L.F.; TEODÓRIO, N.R. Effect of Aging on Cortical Spreading Depression. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 29, p. 1407-1412, 1996.

GUEDES, R.C.A.; AMÂNCIO-DOS-SANTOS, A.; MANHÃES DE CASTRO, R.; COSTA-CRUZ, R.R.G. Citalopram Has an Antagonistic Action on Cortical Spreading Depression in Well-nourished and Early-Malnourished Adult Rats. *Nurtr. Neurosci.* v.5, p. 115-123, 2002.

GUEDES, R.C.A.; TSURUDOME, K.; MATSUMOTO, N. Spreading Depression in vivo Potentiates Electrically-driven Responses in Frog Optic Tectum. *Brain Research.* v.1036, p. 109-114, 2005.

HADJIKHANI, N.; DEL RIO, M.S.; WU, O., SCHWARTZ, D; BAKKER, D.; FISCHL, B.; WONG, K.K.; CUTRER, F.M.; ROSEN, B.R.; TOOTELL, R.B.H.; SORENSEN, A.G.; MOSKOWITZ, M.A. Mechanisms of Migraine Aura Revealed by Functional MRI in Human Visual Cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. v. 98, p. 4687-4692, 2001.

HAGENAMANN, G.; REDECKER, C.; WITTE, O. W. Intact Functional Inhibition in the Surround of Experimentally Induced Focal Cortical Dysplasias in Rats. *J Neurophysiol.* v. 84, p. 600-603, 2000.

HANAJIMA, R.; UGAYA, Y.; MACHII, K.; MOCHIZUKI, H.; TERAOKA, Y.; ENOMOTO, H.; FURUBAYASHI, T.; SHIIO, Y.; UESUGI, H.; KANAZAWA, I. Interhemispheric Facilitation of the Hand Motor Area in Humans. *Journal of Physiology.* v. 531.3, p. 849-859, 2001.

HOMMER, D.; MOMENAN, R.; RAWLINGS, R.; RAGAN, P.; WILLIAMS, W.; RIO, D.; ECCCKARDT, M. Decreased Corpus Callosum Size Among Alcoholic Women. *Arch. Neurol.* v. 53, p. 359-363, 1996.

HOVDA, D.A.; VILLABLANCA, J.R. Sparing of Visual Field Perception in Neonatal but not Adult Cerebral Hemispherectomized Cats. Relationship with Oxidative Metabolism of the Superior Colliculus. *Behav. Brain. Res.*, v. 37, p. 119-132, 1990.

JANCKE, L.; STAIGER, J.F.; SCHLAUG, G.; HUANG, Y.; STEINMETZ, H. The Relationship Between Corpus Callosum Size and Forebrain Volume. *Cereb. Cortex*, 1997.

KINSBOURNE, M. Hemi-neglect and Hemisphere Rivalry. *Adv. Neurol.* v. 18, p. 41-49, 1977.

KIM, J.H., ELLMAN, A.; JURASKA, J.M. A Re-examination of the Sex Differences in Axon Density and Number in the Splenium of the Rat Corpus Callosum. *Brain Research.* v. 740, p. 47-56, 1996.

KORELOVA; V. I.; BURES, J. Circulation of the Cortical Spreading Depression Around Electrically Stimulated Areas and Epileptic Foci of the Neocortex of Rats. *Brain Res.* v. 173, p. 209-215, 1979.

KOROLEVA, V.I.; BURES, J. Blockade of Cortical Spreading Depression in Electrically and Chemically Stimulated Areas of Cerebral Cortex in Rats. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, v. 48, p. 1-15, 1980.

KRAIG, R.P.; NICHOLSON, C. Extracellular Ionic Variation During Spreading Depression. *Neuroscience*. v.3, p. 1045-1059, 1978.

LARGO, C.; IBARZ, J. M.; HERRERAS, O. Effects of the Gliotoxin Fluorocitrate on Spreading Depression and Glial Membrane Potential in Rat Brain In Situ. *J Neurophysiol.*, v. 78, p. 295 - 307 , 1997.

LEÃO, A.A.P. Spreading Depression of Activity in the Cerebral Cortex. *J Neurophysiol.*, v. 7, p. 359-390, 1944.

LEAO, A.A.P.; MORRISON, R.W. Propagation the Spreading Cortical Depression. *J. Neurophysiol.*, v. 8, p. 33-45, 1945.

LEÃO, A.A.P. Further Observations on the Spreading Depression of Activity in the Cerebral Cortex. *J. neurophysiol.* v.10, p. 359-390, 1947.

LEÃO, A.A.P.; MARTINS-FERREIRA, H. Alteração da Impedância Elétrica no Decurso da Depressão Alastrante da Atividade do Córtex Cerebral. *An. Acad. Brás. Cienc.* v. 25, p. 253-266, 1953.

LEÃO, A.A.P. On the Spread of Spreading Depression. *In: Brazeir MAB (ed) Brain Function.* v. 1. Univ. California Press, Berkeley, p. 73-85, 1963.

LEHMENKÜHLER, A.; GROTEMEYER, K.; TEGTMEIER, F. Migrane: Basic Mechanisms and Treatment, 602p. *Urban & Schwarzenberg Munich*, 1993.

LENT, R.; SCHMIDT, S.L. The Ontogenesis of Cortical Commisures and the Determination of Brain Asymmetries. *Progress in Neurobioogy*. v. 40, p. 249-276, 1993.

LUKIANOVÁ, L.D.; BURES, J. Changes in PO<sub>2</sub> Due to Spreading Depression in the Cortex and Nucleus Caudatus of the Rat. *Physiolgia Bohemoslovenica*. v. 16, p. 449-455, 1967.

MARTINS-FERREIRA, H.; OLIVEIRA-CASTRO, G.; STRUCHINER, C.J.; RODRIGUES, P.S. Circling Spreading Depression in Isolated Chick Retina. *J. Neurophysiol.*, v. 37, p. 773-784, 1974.

MATSUNAMI, K.; HAMADA, I. Effects of Stimulation of Corpus Callosum on Precentral Neuron Activity in the Awake Monkey. *J. Neurophysiol*. v. 52, p. 676-691, 1984.

MAYBERG, H. S.; MORAN, T. H.; ROBINSON, R. G. Remote Lateralized Changes in Cortical [3H]Spiperone Binding Following Focal Frontal Cortex Lesions in the Rats. *Brain Res.* v. 516, p. 127-131, 2003.

MIKELS, J.A.; REUTER-LORENZ, P.A. Neural Gate Keeping: The Role of Interhemispheric Interactions in Resource Allocation and Seletive Filtering. *Neuropsychology*. v.18, p. 328-339, 2004.

MORGANE, P.J.; KEMPER, M; STERN, T.; FORBES, W.; HALL,R.; BRONZINO, I.D.; KISSANE, I.; HAWRYLEWICZ, F.; RESNICK, O. The Effects of Protein Malnutrition on the Developing Central Nervous System in the Rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v.2, p. 137-230, 1978.

MORGANE, P.J.; AUSTIN-LAFRANCE, R.J.; BRONZINO, I.D.; TONKISS, J.; DIAZCINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J.R. Prenatal Malnutrition and Development of the Brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v.17, p. 91-128, 1993.

MURASE, N.; DUQUE, J.; MAZZOCHIO, R.; COHEN, L.G. Influence of Interhemispheric Interactions on Motor Function in Chronic Stroke. *Ann Neurol.*, v.55, p. 400-409, 2004.

NEUMANN-HAEFELIN, T; HAGEEMANN, G.; WITTE, O. W. Cellular Correlates of Neuronal Hyperexcitability in the Vicinity of Photochemically Induced Cortical Infarcts in Rats in vitro. *Neurosci. Lett.* v. 193, p. 101-104 , 1995.

NEUMANN-HAEFELIN, T.; MOSELEY, M. E.; ALBERS, G.. New magnetic Resonance Imaging Methods for Cerebrovascular Disease: Emerging Clinical Applications. *Ann. Neurol.* v. 47, p. 559-570, 2000.

NEUMANN-HAEFELIN, T.; WITTE, O.W. Periinfarct and Remote Excitability Changes After Transient Middle Cerebral Artery Occlusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, v. 20, p. 45-52, 2000.

NICHOLSON, C.; KRAIG, R.P. Chloride and Potassium Changes Measured During Spreading Depression in Catfish Cerebellum. *Brain Res.*, v. 96, p. 384-389, 1975.

OLIVARES, R.; MONTIEL, R.; ABOITIZ, F. Species Differences and Similarities in the Fine Structure of the Mammalian Corpus Callosum. *Brain Behav. Evol.* v. 57, p. 98-105, 2001.

PFEFFERBAUM, A.; LIM, K.O; DESMOND, J.E.; SULLIVAN, E.V. Thinning of the Corpus Callosum in Older Alcoholic Men: a Magnetic Resonance Imaging Study. *Alcohol Clin. Exp. Res.* v.20, p. 752-757, 1996.

PFEFFERBAUM, A; SULLIVAN, E.V.; HEDEHUS, M.; ADALSTEINSSON, E.; LIM, K.O.; MOSELEY, M. In vivo Detection and Functional Correlates of White Matter Microstructural Disruption in Chronic Alcoholism. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* v. 24, p. 1214-1221, 2000a.

PHILLIPS, J.M.; NICHOLSON, C. Anion Permeability in Spreading Depression Investigated with ion-sensitive micropipettes. *Brain Res.*, v. 173, p. 567-571, 1979.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; AKE, A.; VOITS, M.; FINK, H.; ROHDE, W.; DÖRNER, G. Perinatal Elevation of Hypothalamic Insulin, Acquired Malformation of Hypothalamic Galaninergic neurons, and Syndrome x-like Alterations in Adulthood of Neonatally Overfed rats. *Brain Research*, v. 836, p. 146-155, 1999.

RAUSCHECKER, J.P. Mechanisms of Compensatory Plasticity in the Cerebral Cortex. [Review]. *Adv. Neurol.*, v. 73, p. 137-146, 1997.

RICE, M. E.; NICHOLSON, C. Interstitial Ascorbate in Turtle Brain is Modulated by Release and Extracellular Volume Change. *J. Neurochem.* v. 49, p. 1097-1104, 1987.

RILLING, J.; INSEL, T.R. Differential Expansion of Neural Projection Systems in Systems in Primate Brain Evolution. *Neuroreport*. v.10, p. 453-459, 1999.

RINGO, J.L.; DOTY, R.W.; DEMETER, S.; SIMARD, P.Y. Time is the Essence: a Conjecture that Hemispheric Specialization Arises from Inter-Hemispheric Conduction Delay. *Cereb. Cortex.* v. 4, p. 331-343, 1994.

ROCHA-DE-MELO, A.P.; GUEDES, R.C.A. Spreading Depression is Facilitated in Adults Rats Previously Submitted to Short Episodes of Malnutrition During the Lactation Period. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v. 30, p. 663-669, 1997.

ROSEN, G.D.; GALABURDA, A.M.; SHERMAN, G.F. Cerebrocortical Microdysgenesis with Anomalous Callosal Connections: a Case Study in the Rat. *Int J Neurosci.* V. 47, p. 237-247, 1989.

ROSEN, G.D.; BURSTEIN, D.; GALABURDA, A.M. Changes in Efferent and Afferent Connectivity in Rats with Induced Cerebrocortical Microgyria. *J Comp Neuro.l.* v. 418, p. 423-440, 2000.

SANTOS-MONTEIRO, J.; TEODÓSIO, N.R.; GUEDES, R.C.A. Long-Lasting Effects of Early Environmental Stimulation on Cortical Spreading Depression in Normal and Early Malnourished Adult Rats. *Nutritional Neuroscience.* v.3, p. 29-40, 2000.

SHIMIZU, T.; NARIARI, T.; HINO, T.; KOMORI, T.; SHIMIZU, H.; HIRAI, S.; SENDA, M. Enhanced Motor Cortical Excitability in the Unaffected Hemisphere After Hemispherectomy. *Neuroreport.*, v. 11, p. 3077-3084, 2000.

SCHMIDT, S.; BRUEHL, C.; HAGEMANN, G.; WITTE, O.W.; REDECKER, C. Impairment of Funcional Inhibition in the Contralateral Cortex Following Perinatally Acquired Malformations in Rats. *Experimental Neurology*. (in press) 2006.

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. *Brazilian Journal Medical Biological Research*. v. 20, p. 383-392, 1987.

SMITH, R.J., Relative Size versus Controlling for Size: Interpretation of Rations in Research on Sexual Dimorphism in the Human Corpus Callosum. *Current Anthropology*. v. 46, p. 249-273, 2005.

STERN, W.C.; FORBES, W.B.; RESNICK, O.; MORGANE, P.J. Seizure Susceptibility and Brain Amine Levels Following Protein Malnutrition During Development in the Rat. *Brain Research*, v. 79, p. 175-384, 1974.

SUGAYA, E.; TAKATO, M.; NODA, Y. Spreading Depression Under the Effect of Tetrodotoxine. *J.Physiol. Soc. Jpn.* v. 23, p. 591-592, 1971.

TABER, K.H.; FULLER, G.N.; STANLEY, J.N.D.; FRANCE, J.F.; WIGGINS, R.C. The Effect of Postnatal Undernourishment on Epileptiform Kindling of Dorsal hippocampus. *Experientia*. ,v. 36, p. 69-70, 1980.

TAKANO, K.; LATOUR, L.L.; FORMATO, J.E.; CARANO, R.A.D.; HELMER, K.G.; HASEGAWA, Y.; SOTAK, C.H.; FISHER, M. *Annals of Neurology*. V. 39, p. 308-318, 1996.

TEODÓSIO, N.R.; LAGO, E.S.; ROMANI, E.S.; GUEDES, R.C.A. A Regional Basic Diet From Northeast Brazil as a Dietary Model of Experimental Malnutritional. *Archivos Latino Am. de Nutrition*. v. 40, p. 533-547, 1990.

TROIANO, R.P.; FLEGAL, K.M.; HUCZMARSHI, R.J.; CAMPBELL, S.M.; JOHNSON, C.L. Overweight Prevalence and Trends for Children and Adolescents. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*, v. 149, p. 1085-1091, 1995.

VASCONCELOS, C.A.C.; OLIVEIRA, J.A.F.; COSTA, L.A.O.; GUEDES, R.C.A. Malnutrition and REM-Sleep Deprivation Modulate in Rats the Impairment of Spreading Depression by Single Sub-Convulsing Dose of Pilocarpine. *Nutritional Neuroscience*. v.7, p.163-170, 2004.

VILLABLANCA, J.R.; BURGESS, J.W.; OLMSTEAD, C.E. Recovery of Function After Neonatal or Adult Hemispherectomy in Cats: I. Time Course, Movement, Posture and Sensorimotor Tests. *Behav. Brain. Res.*,v. 19, p. 205-226, 1986.

VILLABLANCA, J.R.; HOVDA, D.A.; JACKSON, G.F.; GAYEK, R. Neurological and Behavioral Effects of a Unilateral Frontal Cortical Lesion in Fetal Kittens: I. Brain Morphology, Movement, Posture, and Sensorimotor Tests. *Behav. Brain. Res.*,v. 57, p. 63-77, 1993a.

VILLABLANCA, J.R.; HOVDA, D.A.; JACKSON, G.F.; INFANTE, C. Neurological and Behavioral Effects of a Unilateral Frontal Cortical Lesion in Fetal Kittens: II. Visual System Tests, and Proposing an “Optimal Developmental Period” for Lesion Effects. *Behav. Brain Res.*, v. 57, p. 79-92, 1993b.

VYSKOCIL, F.; KRIZ, N.; BURES, J. Potassium-Selective Microelectrodes Used for Measuring the Extracellular Brain Potassium During Spreading Depression and Anoxic Depolarization. *Brain Res.* v. 39, p. 255-259, 1972.

WERHAHN, K. J.; MORTENSEN, J.; KAELIN-LANG, A.; BOROOJERDI, B.; COHEN, L. G. Cortical Excitability Changes Induced by Deafferentation of the Contralateral Hemisphere. *Brain.* v. 125, p. 1402-1413, 2002.

WILSON, C.L.; ISOKAWA, M.; BABB, T.L.; CRANDALL, P.H. Functional Connections in the Human Temporal Lobe. I. Analysis of Limbic System Pathways Using Neuronal Responses Evoked by Electrical Stimulation. *Exp. Brain. Res.*, v. 82, p. 894-904, 1990.

WITELSON, S.T. The Brain Connection: The Corpus Callosum is Large in Left-Handers. *Science.* v.229, p. 665-668, 1985.

WITELSON, S.F. Hand and Sex Differences in the Isthmus and Genu of the Human Corpus Callosum: a Postmortem Morphological Study. *Brain.* v. 112, p. 799-835, 1989.

XIMENES-DA-SILVA, A.; GUEDES, R.C.A. Differential Effect of Changes in Blood Glucose Levels the Velocity of Propagation of Cortical Spreading Depression in Normal and Malnourished Rats. *Brazilian Journal medical Biolocal*. v. 24, p.1277-1281, 1991.

YAMAUCHI, H; FUKUYAMA, H; NAGAHAMA, Y; KATSUMI, Y; DONG, Y; KONISHI, J; KIMURA, J. Atrophy of the Corpus Callosum, Cognitive Impairment, and Cortical Hypometabolism Fin Progressive Supranuclear Palsy. *Ann. Neurol*. v. 41, p. 606–614, 1997.

Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Ciências Biológicas

Av. prof. Nelson Cavalcante, s/n  
50670-420 / Recife - PE - Brasil  
fones: (55 81) 2126 8840 / 2126 8351  
fax: (55 81) 2126 8380  
www.ccb.ufpe.br



Ofício nº 114/2004

Recife, 30 de junho de 2004

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE  
Para: Prof. Rubens Carlos Araújo Guedes  
**Dep. de Nutrição CCS/UFPE**

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram a resposta de V. Sa. referente ao parecer da CEEA sobre o projeto de pesquisa intitulado "**Papel das Influências Inter-hemisféricas no Fenômeno da Depressão Alastrante de Leão no Neocórtex de Ratos Normais e Desnutridos**", processo Nº 0005535/2004-21.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

De acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos, ressaltamos ainda que o sacrifício dos animais experimentais, realizado no presente trabalho, justifica-se pelo fato de não existirem recursos alternativos para a realização do procedimento científico. Diante do exposto, emitimos um parecer favorável aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,

Profa. Silene Carneiro do Nascimento  
Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal