

WILLIAM FRANK GNOATTO

**ESTUDO DO ENVOLVIMENTO DO ESTRIADO VENTRO-
LATERAL NO COMPORTAMENTO PREDATÓRIO DE
RATOS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito parcial
para a obtenção do título de Bacharel
no Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Da
Cunha.

CURITIBA

2005

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que sempre me incentivaram.

Aos meus amigos, que estiveram todo o tempo ao meu lado.

Ao Cláudio, meu orientador, pela oportunidade e por ter me colocado sempre no rumo certo.

Aos meus colegas de estágio, Marcelo, Ivana, Lucélia, Michele e Jeff, que me ensinaram e auxiliaram muito na realização dos experimentos.

Aos professores da banca por terem contribuído muito para a minha formação acadêmica.

À farmacêutica Sílvia por todo o apoio e materiais.

Aos funcionários do setor, responsáveis pela manutenção do ambiente.

Para todos vocês, muito obrigado.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. OBJETIVOS	8
2.1 OBJETIVO GERAL.....	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS	9
4. RESULTADOS	14
4.1 PESO CORPORAL.....	14
4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS.....	14
5. DISCUSSÃO	20
6. CONCLUSÃO	23
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXO	27

ALUNO

William Frank Gnoatto

ORIENTADOR

Prof. Dr. Cláudio da Cunha

LOCAL ONDE FOI DESENVOLVIDO O ESTÁGIO

Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central

Departamento de Farmacologia

Setor de Ciências Biológicas

Centro Politécnico Jardim das Américas

Universidade Federal do Paraná

1. INTRODUÇÃO

O comportamento predatório em animais é algo que ainda não está bem claro para a neurociência. O que leva um animal a se comportar como presa em potencial, procurando abrigo, proteção e o que leva o mesmo animal a se expor ao ambiente em uma atividade predatória e que geralmente envolve riscos à integridade do caçador? Será apenas a necessidade de nutrientes ou pode haver algo mais? Talvez o comportamento agressivo dos animais (incluindo nós humanos), seja algo inato e que pode vir a ser totalmente desvendado pela ciência algum dia, mas ainda há um longo caminho pela frente.

Segundo ARCIS e DESOR (2001), um animal que esteja procurando alimento, sempre fará um balanço do que é mais importante para aquele momento, se é realmente obter alimento, ou ficar protegido em algum lugar seguro. Em outras palavras, quanto maior for a necessidade energética do animal, maior o risco que este estará disposto a enfrentar para conseguir comida.

Atualmente, alguns autores acrescentam que existem outros fatores que influenciam na decisão do animal de explorar o ambiente ou não, como: custos termorregulatórios (BOZINOVIC; VASQUEZ, 1999), atividades reprodutivas (FREY-ROOS *et al.*, 1995), sensibilidade ao risco (BATTALIO *et al.*, 1985), presença de competidores (RITA e RANTA, 1998), e risco de predação (LIMA; DILL, 1990). Além disso, roedores e outros pequenos mamíferos podem seguir pistas diretas ou indiretas sobre predação, tais como a influência da estrutura do habitat, ou cobertura vegetal (WHISHAW *et al.*, 1992), fragmentação do ambiente (HOVLAND *et al.*, 1999), ou distância para um abrigo seguro (HUGHES; WARD, 1993).

Existem vários modelos utilizados para testes comportamentais envolvendo predação e risco de ser predado. Cada um com seus pontos positivos e negativos. Os mais comuns tem como objetivo lesionar alguma estrutura do cérebro e analisar os distúrbios que isso possa causar no comportamento dos ratos, seja na exploração do ambiente, como no ato de predar propriamente dito, coordenação motora, sequência de movimentos, entre outros aspectos envolvendo comportamento predatório e de sobrevivência. Alguns experimentos, por sua vez, funcionam mais na teoria do que na prática, como é o caso do modelo de camundongos sendo predados por ratos, onde muitas vezes ocorre o inverso, por isso este modelo não está mais sendo muito utilizado. Outro teste tem como objetivo testar a influência do odor no comportamento de predação, utilizando para isso uma presa artificial de metal, que foi borrifada com um odor característico, que o rato reconhece como sendo de uma presa em potencial. Um outro tipo de experimento, coloca o rato como sendo a presa (frente a um gato), para ver o seu comportamento defensivo ou evasivo quando na iminência do perigo. O estudo do cérebro destes ratos, através de técnicas especiais de coloração, mostrou que as estruturas cerebrais envolvidas são praticamente as mesmas envolvidas no comportamento de predação, só o que muda são as regiões ativadas dentro de cada estrutura.

Como já foram citados em trabalhos anteriores, em estudos com ratos, parece existir um padrão inato para esse tipo de comportamento, ou seja, não é algo aprendido e que é passado de um animal para outro, mas todos os predadores da mesma espécie seguem um mesmo padrão, desde que a presa, o predador e as condições do ambiente não variem (CANTERAS *et al.*, 2003).

As estruturas cerebrais que armazenam o programa deste padrão de predação, ou pelo menos parte dele, acredita-se que são os núcleos da base, que são o **núcleo caudado**, o **putâmen**, o **globo pálido** e o **núcleo subtalâmico**. Podemos adicionar a **substância negra**, uma estrutura mesencefálica reciprocamente conectada aos núcleos da base, localizada na base do mesencéfalo. O caudado e o putâmen, em conjunto, são chamados de estriado, que também é alvo de eferências corticais. Os neurônios do estriado se projetam para o globo pálido. O globo pálido é a origem das eferências ao tálamo ventrolateral (VLo). Este, por sua vez, fecha o circuito projetando seus neurônios para o córtex cerebral. As outras estruturas dos núcleos da base enviam em várias colaterais que modulam as vias de saída do estriado (BEAR *et al.*, 2002), tal como no esquema abaixo:

Córtex → Estriado → Globo pálido → VLo → Córtex

Este sistema é chamado de “alça” porque, anatomicamente, o caminho que a informação faz lembra um “U”, onde as informações partem de várias regiões diferentes do córtex, como a motora, as sensoriais e outras, em direção ao estriado, sendo que o destino final é uma região do córtex frontal, tal como uma área denominada Área Motora Suplementar (AMS).

Para que possamos entender um pouco mais sobre esse assunto, é importante ressaltar que para todo tipo de movimento iniciado, existe um controle cerebral responsável pelo refino destes movimentos (essencial para atividades onde existe captura de presas ou objetos), bem como um estímulo para iniciar os movimentos das áreas motoras. Um dos neurotransmissores responsáveis por esses efeitos é a Dopamina (Da), que é uma das substâncias mais abundantes nos núcleos da base, incluindo o estriado, e participa nas duas vias principais de

saída de informação dos núcleos da base, resumidamente, a via direta, que causa desinibição dos neurônios tálamo-corticais, gerando um aumento dos movimentos, e a via indireta, que tem o mecanismo e o efeito oposto da via direta (FERRO, 2003).

Ao microscópio, os neurônios do estriado parecem estar espalhados aleatoriamente, sem uma ordem aparente, como aquela encontrada nas camadas do córtex. Mas esta aparência desordenada esconde um grau de complexidade na organização dos núcleos da base que apenas agora estamos começando a apreciar com o uso de técnicas de imunohistoquímicas que mostram que a coloração específica de alguns neurotransmissores peptídicos no estriado revela mosaicos que foram matrisomas e estriosomas. Parece que os núcleos da base participam de um grande número de circuitos paralelos, sendo apenas alguns poucos de função estritamente motora (BEAR *et al.*, 2002).

O glutamato e o aspartato são os principais neurotransmissores utilizados pelos neurônios córtico-estriatais. Além do estriado, eles são encontrados em concentrações bem altas no cérebro e ambos os aminoácidos apresentam efeitos excitatórios extremamente poderosos nos neurônios em praticamente todas as regiões do sistema nervoso central (GILMAN *et al.*, 2003). Quando as sinapses glutamatérgicas estão muito ativas, elas induzem a expressão da proteína Fos, que é um gene de expressão imediata onde existe atividade neuronal mediada por sinapses glutamatérgicas. Recentemente foi descoberta a sua expressão no estriado ventrolateral de ratos que predaram baratas (CANTERAS *et al.*, 2003), o que não ocorria quando os ratos simplesmente se alimentavam de ração. Além disso, um outro estudo feito por CROMWELL e colaboradores (1996), aponta a região anterior dorso-lateral do estriado como principal responsável pela sintaxe

de movimentos realizados em cadeia, como por exemplo o “grooming” ou comportamento de limpeza da pelagem em ratos. Por isso, a proposta do presente trabalho é inativar a região mais ventral do estriado com um anestésico local, onde já foi vista a expressão de cFos em ratos que predaram baratas, e estudar se isto causa distúrbios no comportamento predatório de ratos frente a baratas.

Neste experimento, será utilizado um anestésico local como forma de inativação dos neurônios do estriado, embora, em experimentos farmacológicos, seja mais frequente inativar as estruturas desejadas por meio de uma lesão com algum fármaco de ação citotóxica, como por exemplo, a 6-OHDA (6-hidroxidopamina), muito utilizada para lesionar os neurônios da substância negra compacta em estudos sobre doença de parkinson.

Anestésicos locais incluem ésteres (cocaína, procaína, tetracaína, entre outros), e amidas, como por exemplo a lidocaína, bupivacaína, ropivacaína, que são injetados nos arredores dos nervos para causar interrupção temporária praticamente completa do tráfego neural (GILMAN *et al.*, 2003). Foram descritas as ações farmacológicas que a lidocaína compartilha com outros anestésicos locais. A lidocaína induz anestesia mais rápida, mais intensa e de duração mais longa e extensão maior do que a proporcionada por uma concentração idêntica de procaína (GILMAN *et al.*, 2003). Diferente da procaína, a lidocaína é uma aminoetilamida e é o membro prototípico da classe amida dos anestésicos locais (GILMAN *et al.*, 2003). O mecanismo de ação da lidocaína é o bloqueio dos canais de sódio dos neurônios, impedindo assim a propagação do estímulo elétrico.

Foi escolhido um anestésico local ao invés de uma lesão permanente, para que fosse possível fazer a reversão dos testes, como será explicado a seguir.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se o estriado ventrolateral está envolvido no comportamento de predação em ratos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Padronizar no nosso laboratório um modelo de predação de baratas por ratos.

- Testar se a administração do anestésico local lidocaína altera este comportamento predatório de ratos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para este experimento, foram utilizados 12 ratos Wistar machos, adultos, com aproximadamente 100 dias de vida, pesando entre 270 e 330 g, fornecido pelo biotério da UFPR - Centro Politécnico, sendo estes separados em dois grupos. O grupo (A) com 6 animais, que em uma sessão de predação recebeu uma injeção intra-estriatal de solução salina (NaCl 0,9%) e, em uma sessão subsequente recebeu uma solução de lidocaína (4%, dissolvida em salina). O grupo (B), também com 6 animais, que recebeu lidocaína na primeira sessão e salina na segunda.

Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas (60 x 25 x 25cm), agrupados de cinco em cinco, com exceção da última gaiola que teve apenas dois ratos. Não houve separação dos animais do grupo A dos do grupo B nas gaiolas. Todos os animais (incluindo as baratas) tiveram água e comida à vontade e ficaram em uma sala com temperatura constante em torno de 22°C e ciclos de claro-escuro de 12 em 12 horas, sendo a fase clara iniciada às 7h da manhã. As baratas foram acondicionadas em gaiolas iguais à usadas para acondicionar os ratos, tampadas com um pano poroso, preso na borda externa da caixa com um elástico. Foi aplicada vaselina branca na porção superior interna das gaiolas, para evitar a fuga dos insetos. Foram utilizadas caixas de embalagem de ovos, feitas de papelão, como abrigo para as baratas, e ração para coelhos como alimento. Em uma placa de pétri era colocado um maço de algodão, embebido em água para os artrópodos. Todas as baratas foram fornecidas pelo Centro de Produção e Pesquisa Imunológica (CPPI), localizado no município de Piraquara, PR.

O peso dos ratos foi monitorado todos os dias, começando sete dias antes do pré-teste, para avaliar se não houve nenhum distúrbio alimentar que pudesse ser significativo para os testes comportamentais.

Todos os testes foram feitos de manhã, entre 7 e 12h, com um animal por dia. Primeiramente foi feito um pré-teste (TESTE 1), com os ratos, em que cada rato ficou em jejum por 24 horas e depois foi colocado na caixa de experimentação, que consiste em um recipiente cúbico, com cinco lados de madeira e uma tampa de vidro móvel, sendo que existe um orifício em uma das paredes, por onde são introduzidas as baratas (vide anexo), além disso foram fixados espelhos nas laterais internas para melhor visualização do experimento. Cada animal foi submetido a uma habituação à caixa de experimentação por 3 h para que pudesse explorar livremente o novo ambiente. Após esse tempo, foram introduzidas na caixa cinco baratas e o comportamento de predação do animal foi observado por 30 min. Durante os testes, os experimentos foram gravados em fitas VHS. Posteriormente, os seguintes comportamentos foram quantificados:

- A latência para iniciar o seguimento das presas (L);
- O tempo gasto no seguimento das presas (TS);
- O tempo gasto com uma presa capturada (TP);
- O número de vezes que o animal se aproxima das presas (NAP);
- O número de capturas (NCA);
- O número de presas parcialmente consumidas (NPPC);
- O número de presas totalmente consumidas (NPTC);

No mesmo dia, após o pré-teste, os animais foram submetidos a uma cirurgia para a implantação de cânulas-guia direcionadas ao estriado ventrolateral. Os animais foram anestesiados com Equitesin (1% tiopental, 4.25%

hidrato de cloral, 2.13% sulfato de magnésio, 42.8% propilenoglicol, 3.7% etanol em água), sendo administrados 4 ml/kg da mistura. Para suprimir a salivagem, foram injetados 0,4 mg/kg de sulfato de atropina (Sigma Chemical Co, EUA), e para evitar infecções, os animais receberam 0,1 ml de penicilina G-procaína 20.000 UI (Bristol-Myers Squibb, Brasil).

Os animais foram fixados em um estereotáxico (vide Fig. 2), pelos orifícios auriculares e por uma barra nasal sob os dentes incisivos (David Kopf, USA). Foi feita uma incisão na parte superior da cabeça, acima do crânio, os músculos foram afastados e o osso exposto. A inclinação da barra nasal foi de -3,3 mm, e as coordenadas estereotáxicas para a implantação das cânulas, a partir do ponto Bregma foram: Antero-posterior (AP) +0,2 mm, Latero-lateral (LL) \pm 2,8 mm e Dorso-ventral (DV) -6,5 mm. Na região das coordenadas foram feitos furos no crânio do animal com o auxílio de uma broca dentária. As cânulas-guia foram fixadas no crânio do animal com acrílico dentário.

Com este procedimento as cânulas-guia de aço inoxidável com diâmetro externo de 0,7 mm e 6 mm de comprimento foram implantadas bilateralmente, com suas extremidades inferiores localizadas logo acima do corpo estriado, não chegando a penetrar neste para não ocorrer lesões nesta área. É importante ressaltar também que cada cânula possuía um bisel na parte inferior para diminuir os danos causados pela lesão. Os furos das cânulas foram tampados com um mandril de aço inoxidável de 6 mm, para evitar infecções e o entupimento das mesmas.

O tempo para recuperação da cirurgia foi de uma semana, sendo que apenas um animal foi operado por dia e em dias consecutivos, para manter o padrão de tempo utilizado nos testes. Na semana seguinte à cirurgia, foram

repetidos os testes de predação exatamente como descrito acima, porém, 10min antes de colocar as baratas, no TESTE 2, os ratos do grupo B receberam a microinfusão bilateral de lidocaína 4% (Sigma, EUA, dissolvida em solução salina, NaCl 0,9%), 0,4 μ L em cada hemisfério cerebral na região do estriado ventro-lateral, enquanto que nos ratos do grupo A, foram injetados 0,4 μ L de solução salina. Uma semana depois foi realizado o TESTE 3, onde os ratos do grupo A receberam a microinfusão de lidocaína, e os ratos do grupo B, receberam microinfusão de solução salina. As duas agulhas para injeção tinham 10 mm de comprimento, portanto ultrapassavam as cânulas-guia e penetravam 4 mm abaixo, estando sua ponta exatamente no centro do estriado ventro-lateral de cada hemisfério cerebral. Cada agulha estava conectada a uma seringa Hamilton de 10 μ L por tubos de polietileno e o êmbulo destas seringas eram movidos por uma bomba de microinfusão (Harvard Apparatus, EUA) de forma a infundir a solução a um fluxo de 0,4 μ L/min. As agulhas foram mantidas por mais 1 min no cérebro dos animais antes de serem retiradas para evitar refluxo da solução.

Logo após o término do terceiro teste, os animais foram profundamente anestesiados com 100 mg/kg de tiopental e seus cérebros foram lavados e fixados por perfusão cardíaca com solução salina seguida de solução de formol 4%. Seus cérebros retirados e mantidos formol 4% por 7 dias, transferidos para uma solução de formol 4% com sacarose 20% por mais 7 dias e depois enviadas para o laboratório do Dr. Newton Canteras (USP-SP) para averiguar se as cânulas foram implantadas no local correto em lâminas coradas pelo método da coloração de Nissl. Ainda não temos o resultado desta análise.

A massa corporal dos ratos foi medida diariamente, para acompanhar se não haveria alguma disfunção metabólica grave, em virtude dos períodos de

jejum, ou, principalmente, no período pós cirúrgico, onde é comum os animais perderem peso mais acentuadamente.

Por fim, informa-se que a caixa de experimentação ficou apoiada na mesa com a área correspondente aos lados 16 x 50 cm, com o intuito de facilitar as filmagens.

4. RESULTADOS

4.1 PESO CORPORAL

A média dos pesos dos ratos de cada grupo pode ser acompanhada pelo gráfico abaixo:

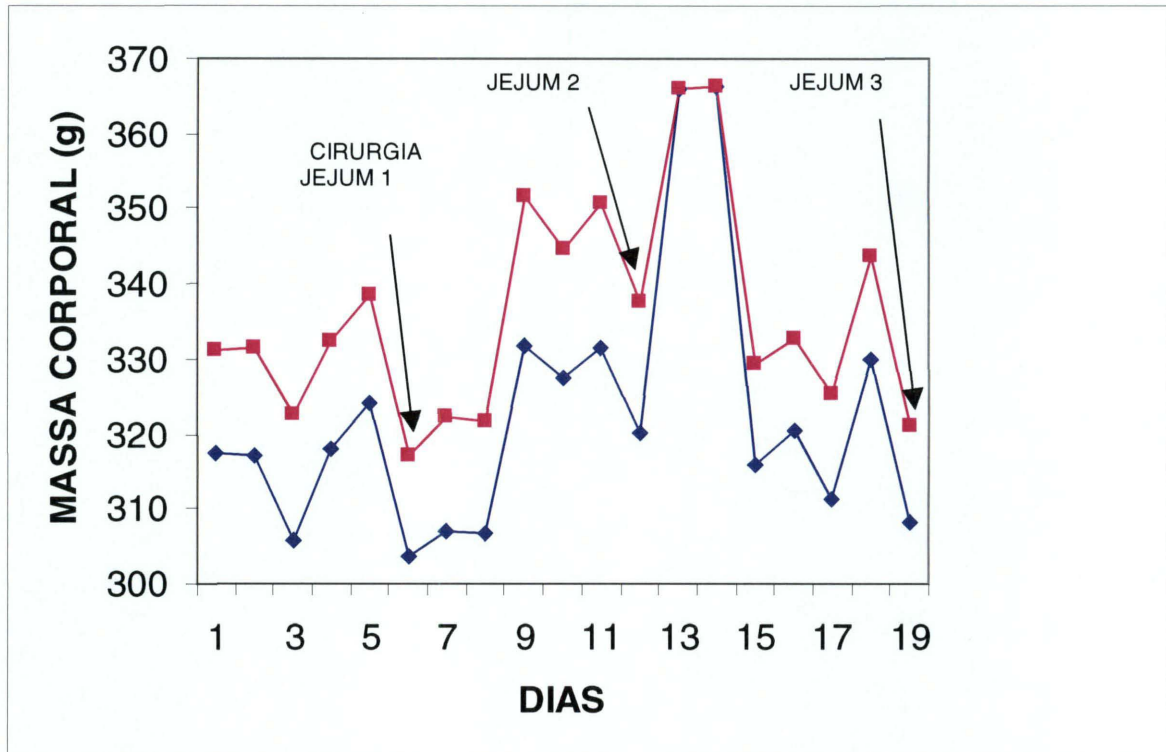


Figura 1: Variação média da massa corporal dos ratos do grupo A (rosa) e do grupo B (azul).

Foi observado uma perda de peso em todos os ratos no período pós-cirúrgico e após os dias de jejum, conforme a figura acima.

4.2 TESTES COMPORTAMENTAIS

As tabelas abaixo mostram os resultados encontrados durante os testes. É importante salientar que todos os tempos estão quantificados em segundos. Para

fazer estas análises, foram utilizados apenas seis dos doze ratos envolvidos no experimento.

A seguir serão apresentados sete gráficos, mostrando as médias dos resultados presentes nas tabelas acima, comparando os dois grupos nos três dias de testes.

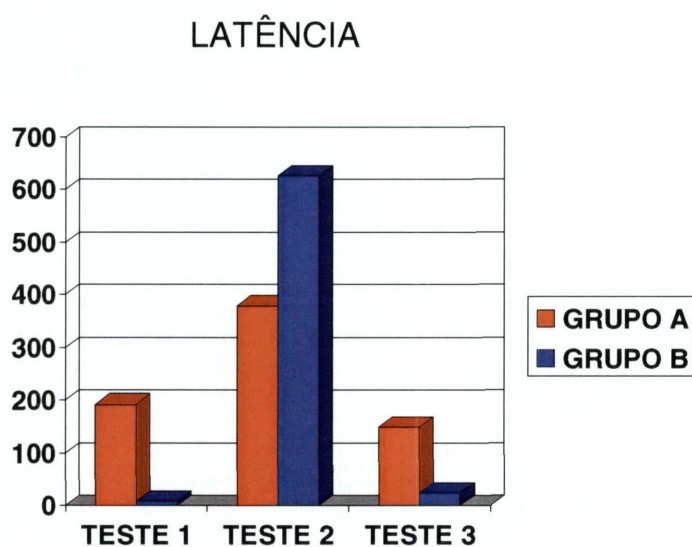


Figura 2: Este gráfico mostra quanto tempo os ratos demoram, em média, para capturar a primeira barata, de acordo como cada grupo. Nenhum grupo recebeu substâncias no teste 1. O grupo A recebeu microinfusão de salina no teste 2 e de lidocaína no teste 3. O grupo B recebeu lidocaína no teste 2 e salina no teste 3.

TEMPO DE SEGUIMENTO

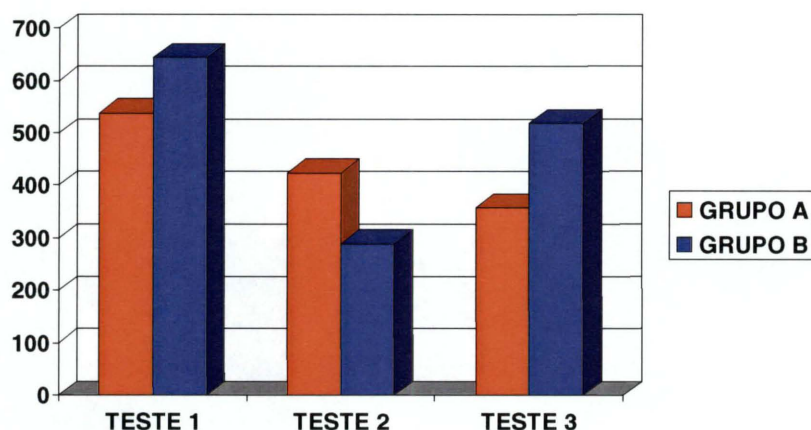


Figura 3: O gráfico evidencia quanto tempo os ratos gastam no seguimento de suas presas, não foram incluídos aqui os tempos de *freezing*, *grooming*, o tempo que os ratos dormiam, entre outros comportamentos que não fossem o TS. Nenhum grupo recebeu substâncias no teste 1. O grupo A recebeu microinfusão de salina no teste 2 e de lidocaína no teste 3. O grupo B recebeu lidocaína no teste 2 e salina no teste 3.

TEMPO COM A PRESA CAPTURADA

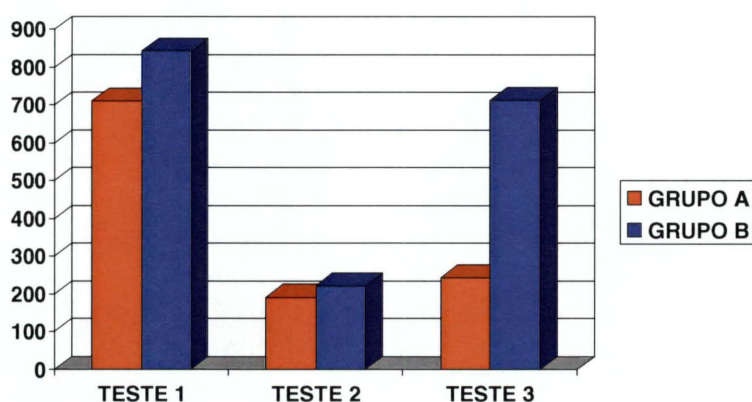


Figura 4: Este gráfico mostra a quantidade de tempo que os ratos ficam com as presas capturadas, seja devorando-as ou simplesmente com elas aprisionadas em suas patas dianteiras. Nenhum grupo recebeu substâncias no

teste 1. O grupo A recebeu microinfusão de salina no teste 2 e de lidocaína no teste 3. O grupo B recebeu lidocaína no teste 2 e salina no teste 3.

NÚMERO DE APROXIMAÇÕES

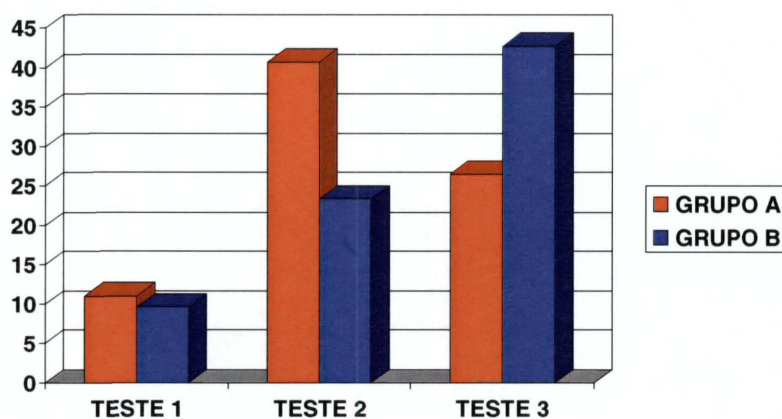


Figura 5: Este gráfico explicita quantas vezes os ratos se aproximam das baratas, independente se eles as capturam ou não. Porém, não foi quantificado como número de aproximações quando os ratos capturam as baratas por estas estarem muito próximas, sem que eles precisem se locomover até elas. Nenhum grupo recebeu substâncias no teste 1. O grupo A recebeu microinfusão de salina no teste 2 e de lidocaína no teste 3. O grupo B recebeu lidocaína no teste 2 e salina no teste 3.

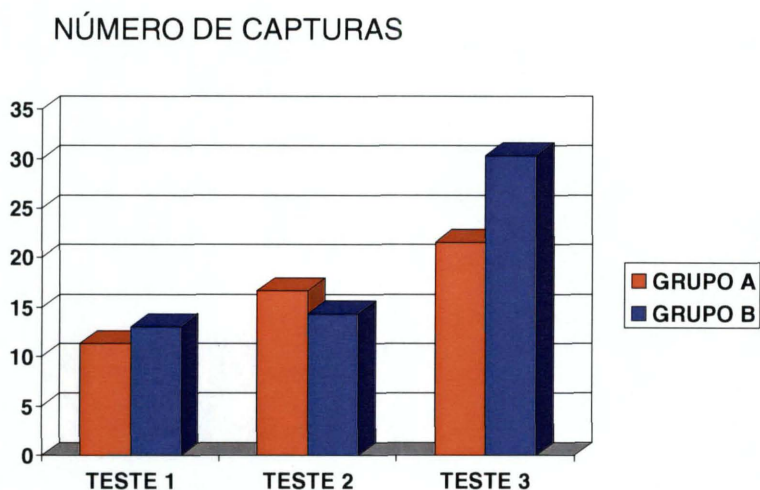


Figura 6: Neste gráfico são mostradas quantas vezes os ratos capturaram efetivamente as baratas. Foi considerado como captura quando eles conseguiam segurar as baratas com as duas patas, mesmo que por um instante apenas, e não foi considerado como captura quando os ratos apanhavam baratas que eles já haviam abatido previamente. Nenhum grupo recebeu substâncias no teste 1. O grupo A recebeu microinfusão de salina no teste 2 e de lidocaína no teste 3. O grupo B recebeu lidocaína no teste 2 e salina no teste 3.

PRESAS PARCIALMENTE CONSUMIDAS

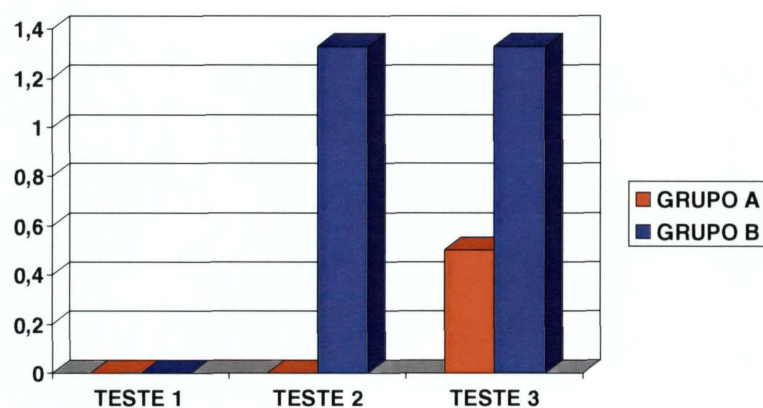


Figura 7: Este gráfico mostra, em média, quantas baratas foram consumidas parcialmente pelos ratos durante os testes. Como sempre sobram

fragmentos das baratas, foram consideradas como parcialmente consumidas, quando mais de 25% do corpo delas ficava intacto. Nenhum grupo recebeu substâncias no teste 1. O grupo A recebeu microinfusão de salina no teste 2 e de lidocaína no teste 3. O grupo B recebeu lidocaína no teste 2 e salina no teste 3.

PRESAS TOTALMENTE CONSUMIDAS

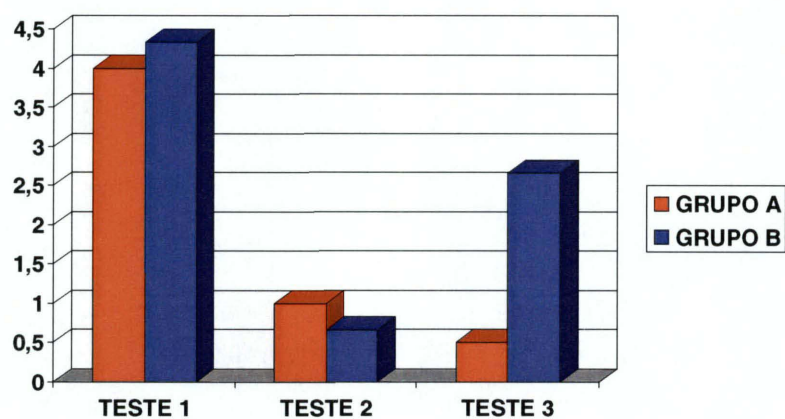


Figura 8: Este gráfico evidencia a atividade predatória propriamente dita, ou seja, quantas baratas, em média, cada rato consumiu por completo. Nenhum grupo recebeu substâncias no teste 1. O grupo A recebeu microinfusão de salina no teste 2 e de lidocaína no teste 3. O grupo B recebeu lidocaína no teste 2 e salina no teste 3.

5. DISCUSSÃO

A perda de peso observada após os jejuns e no período pós-cirúrgico, é comum e provavelmente não cause distúrbios comportamentais significantes para o período em que os animais serão testados.

Um problema ocorreu por uma falha no método do teste 1. Para realizar os testes 2 e 3, o rato era retirado da caixa e recebia a microinfusão de alguma substância, mas no teste 1 não, ou seja, após 3 h de habituação, alguns ratos estavam dormindo quando as baratas foram introduzidas na caixa de experimentação, fazendo com que o tempo de latência aumentasse muito, desviando-se do valor real que era esperado.

O teste do TS está de acordo com o que era esperado, ou seja, tempos semelhantes para o teste 1, e um tempo menor de seguimento para os animais sob efeito do anestésico.

Os testes 1 e 3 do TPC foram como o esperado, entretanto, o teste 2 apresentou divergências, fazendo com que a média de tempo ficasse semelhante aos ratos anestesiados por falta de apetite, pois um dos ratos, no total dos três testes, consumiu apenas 3 presas, mostrando um certo desinteresse pelas baratas. Já um outro rato consumiu todas as baratas no teste 1, uma no teste 3, mas nenhuma no teste 2. Tudo isso contribuiu para o desbalanço do grupo A no teste 2 do TPC. Um outro motivo pode ter sido a falha no jejum de 24 h, que ocorreu em alguns casos, sendo que quando este foi percebido, foram repetidos os testes em uma outra data.

O número de aproximações seguiu uma lógica bastante interessante. Em um primeiro contato, os ratos investigavam um pouco as presas e logo em

seguida as capturavam e consumiam, fazendo com que os números do teste 1, de ambos os grupos ficassem semelhantes, quando os ratos estavam anestesiados, este número aumentava bastante, porque os ratos não tinham um interesse tão grande nas baratas e quando tinham, haviam dificuldades para eles conseguirem capturá-las, fazendo com que eles tivessem que se aproximar inúmeras vezes das baratas até conseguirem segurá-las com êxito. E nos ratos que receberam solução salina, houve um maior número de aproximações, porque geralmente os ratos ficavam “eufóricos”, ou hiper-ativos, eles se moviam muito rápido e se aproximavam de diversas baratas, capturando-as, mas liberando elas logo em seguida para correr atrás de outra que estivesse na sua linha de visão, fazendo com que os números ficassem bastante altos, mas o padrão do gráfico ficou como era previsto.

O número de capturas reflete, em parte, o que foi comentado acima, ou seja, os ratos com salina (hiper-ativos), fizeram mais capturas porque largavam a barata que já estava capturada para correr atrás de outra, e os ratos com lidocaína (anestesiados) faziam várias capturas por não conseguirem coordenação suficiente para mantê-las presas em suas patas dianteiras. Os ratos no teste 1 eram mais acurados e coordenados do que nos outros testes.

O NPPC foi alto em apenas dois dos 18 testes realizados, sendo que geralmente os ratos consumiam as presas com um tempo maior de experimento. Alguns ratos matavam primeiro as presas para consumi-las posteriormente, outros consumiam a presa e largavam-na pela metade sem um padrão que pudesse ser identificado.

O NPTC chegou muito perto do esperado, pois no teste 1 quase todas as baratas foram consumidas, e os animais que receberam solução salina

apresentaram um comportamento predatório bem mais acentuado do que aqueles que receberam a microinfusão de lidocaína.

Alguns problemas ocorreram durante a execução dos testes e provavelmente influenciaram nos resultados. Nos teste iniciais, algumas baratas escalaram a caixa de experimentação e ficaram numa altura inatingível para o rato, fazendo com que este não tivesse a oportunidade de predá-las. Este problema foi posteriormente resolvido com uma modificação na caixa, foi colocada uma plataforma paralela ao teto da caixa, porém, alguns centímetros abaixo deste, fazendo com que nenhuma barata desde então conseguisse ficar isolada do rato durante os testes.

Um dos principais motivos de desvios que estão sendo encontrados é, sem dúvidas, o baixo número de animais que estão sendo analisados neste momento, pois os resultados deste trabalho são apenas uma parte de um projeto maior e que ainda está em desenvolvimento. O projeto total tem por finalidade aumentar o número de animais, além de fazer análises imunohistoquímicas dos cérebros de todos os ratos utilizados nos experimentos.

Como sugestões para melhorar o projeto, seria possível realizar os testes comportamentais durante a noite (período de atividade de um rato na natureza), ou ainda utilizar a mesma caixa de habituação do rato para fazer os testes, para que ele não perca tempo explorando o novo ambiente. Uma outra sugestão, é estudar a lateralidade do processo, ou seja, se uma lesão ou anestesia unilateral do estriado produziria os mesmos efeitos que a lesão bilateral, apenas efeitos parciais, ou nenhum efeito.

6. CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos até agora, temos algumas evidências de que o estriado ventrolateral está envolvido na atividade predatória em ratos, pois a observação dos testes mostra que geralmente existe uma grande redução do interesse que estes apresentam por suas presas quando anestesiados na área em questão, além de um visível déficit na coordenação dos movimentos, semelhante ao trabalho de CROMWELL (1996), porém, como exatamente se dá essa influência ainda não sabemos. Vale salientar novamente que este projeto ainda está em andamento e portanto ainda é um pouco cedo para termos convicção de qual é o papel fundamental que o estriado ventrolateral exerce no comportamento predatório.

Todavia, conseguimos já corrigir muitos erros que havia nos métodos que estavam sendo empregados inicialmente, padronizando assim, com sucesso, um modelo de predação de baratas por ratos em nosso laboratório, embora este modelo possa ser aprimorado.

Verificamos que o anestésico lidocaína é eficaz para a região com que estamos trabalhando, pois os animais submetidos à microinfusão deste apresentaram diversos desvios comportamentais em relação aos ratos controle, conforme apresentados anteriormente, porém, como ainda não temos o resultado da análise dos cérebros, não podemos ter certeza de que a lidocaína foi aplicada no local correto. Independente desse dado, sabemos já que ainda não se conhece um método que seja totalmente seguro, ou seja, que faça com que a substância utilizada fique apenas no local da aplicação, atingindo assim áreas próximas também.

Com este trabalho, esperamos ter contribuído para uma área de pesquisa que ainda é pouco estudada no Brasil, deixando margem para outros trabalhos relacionados ao tema, fundamentais para o progresso da ciência como um todo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARCIS, V.; DESOR, D. Influence of environment structure and food availability on the foraging behaviour of the laboratory rat. **Behavioural Processes**. Vandoeuvre-les-Nancy Cedex, v.60, p.191–198, 2003.
- BATTALIO, R. C.; KAGEL, J. H.; MCDONALD, D. N. Animal's choices over uncertain outcomes: some initial experimental results. **Am. Econ. Review**, v.75, p.596–613, 1985.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. 2ª ed. São Paulo: Artmed, 2002.
- BOZINOVIC, F., VASQUEZ, R. A. Patch use in diurnal rodent: handling and searching under thermoregulatory costs. **Func. Ecol**, v.13 (5), p.602–610, 1999.
- CANTERAS, N. S.; E. COMOLI, E. R.; RIBEIRO-BARBOSA. Predatory hunting and exposure to a live predator induce opposite patterns of Fos immunoreactivity in the PAG. **Behavioural Brain Research**, v.138, p.17-28, 2003.
- CROMWELL, H. C.; BERRIDGE, K. C. Implementation of action sequences by a neostriatal site: a lesion mapping study of grooming syntax. **The Journal of Neuroscience**, Michigan, v.16(10), p.3444–3458, 1996.
- DA CUNHA, C.; WIETZIKOSKI, S.; WIETZIKOSKI, E. C.; MIYOSHI, E.; FERRO, M. M.; ANSELMO-FRANCI, J. A.; CANTERAS, N. S. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 79, p. 236-242, 2003.
- FERRO, M. M. **Avaliação de dois modelos animais de doença de Parkinson: ratos com lesão da substância negra compacta induzida por 1-metil-4fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP) ou por 6-hidroxidopamina (6-OHDA)**. 2003. 43 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Paraná.
- FREY-ROOS, F.; BRODMANN, P.A.; REYER, H.U. Relationships between food resources, foraging patterns, and reproductive success in the water pipit, *Anthus sp. spino-letta* **Behav. Ecol**, v.6 (3), p.287-295, 1995.
- GILMAN, A. G.; HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2003.
- GREGÓRIO, M. L. **Estudo do aprendizado de hábito em um modelo animal de parkinsonismo**. 2004. 32 f. Monografia – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Paraná.

HOVLAND, N.; ANDREASSEN, H.P.; IMS, R.A. Foraging behaviour of the root vole *Microtus oeconomus* in fragmented habitats. **Oecologia**, v.121 (2), p.236-244, 1999.

HUGUES, J. J.; WARD, D. Predation risk and distance to cover affect foraging behavior in Namib Desert gerbils. **Animal Behaviour**, v.46, p.1243-1245, 1993.

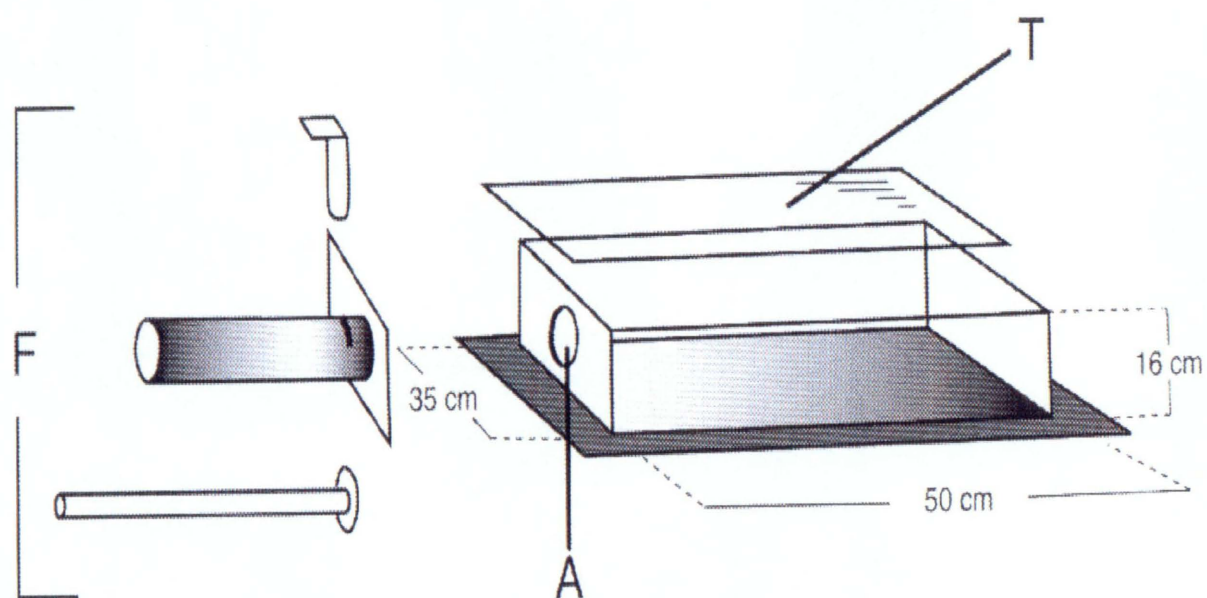
LIMA, S.L.; DILL, L.M. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. **Can. J. Zool**, v. 68, p.619-640, 1990.

RITA, H.; RANTA, E. Competition in a group of equal foragers. **Am. Naturalist**, v.152 (1), p.71-81, 1998.

WHINSHAW, I.Q.; DRINGENBERG, H.C.; COMERY, T.A. Rats (*Rattus norvegicus*) modulate eating speed and vigilance to optimize food consumption: effects of cover, circadian rhythm, food deprivation, and individual differences. **J. Comp. Psychol**, v.106 (4), p.411-419, 1992.

ANEXO

Esquema da caixa de atividades.



A: Orifício da caixa por onde são introduzidas as baratas.

F: Cilindro fixo na frente da caixa, com tampo e êmbolo para empurrar as baratas.

T: Tampa móvel de vidro.

Fotos do aparelho estereotáxico.

