

**FACULDADE DE PINDAMONHANGABA**  
**Elisangela Weitzel do Nascimento**  
**Eric de Oliveira Moraes**

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO MOTORA DE RATOS WISTAR  
SUBMETIDOS À INGESTÃO DE ÁLCOOL**

**Pindamonhangaba – SP**  
**2009**

**Elisangela Weitzel do Nascimento  
Eric de Oliveira Moraes**

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO MOTORA DE RATOS WISTAR  
SUBMETIDOS À INGESTÃO DE ÁLCOOL**

Monografia apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Diploma de Bacharel em Fisioterapia pelo Curso de Fisioterapia da Faculdade de Pindamonhangaba.

Orientador: Prof. MSc. Felipe F. Lemos

Co-Orientador: Prof. MSc. Lincoln Cardoso

**Pindamonhangaba – SP  
2009**

Nascimento, Elisangela Weitzel do; Moraes, Eric de Oliveira

Avaliação da função motora de ratos wistar submetidos à ingestão de álcool /  
Elisangela Weitzel do Nascimento; Eric de Oliveira Moraes / Pindamonhangaba-  
SP : FAPI – Faculdade de Pindamonhangaba, 2009.

37f. : il.

Monografia (Graduação em Fisioterapia) FAPI-SP

Orientador: Prof. Msc. Felipe Fernandes Lemos

1 Álcool. 2 Atividade locomotora. 3 avaliação da motricidade. 4 Rato.

I avaliação da função motora de ratos wistar submetidos à ingestão de álcool. II  
Elisangela Weitzel do Nascimento; Eric de Oliveira Moraes.

**ELISANGELA WEITZEL DO NASCIMENTO  
ERIC OLIVEIRA MORAES**

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO MOTORA DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS À  
INGESTÃO DE ÁLCOOL**

Monografia apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Diploma de bacharel pelo Curso de fisioterapia da Faculdade de Pindamonhangaba.

Data: \_\_\_\_\_

Resultado: \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. \_\_\_\_\_ Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. \_\_\_\_\_ Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura \_\_\_\_\_

Prof. \_\_\_\_\_ .....

Assinatura \_\_\_\_\_

Dedico este trabalho a meus pais, Manoel e Rosangela pelo incentivo, investimento e paciência; ao meu companheiro e amigo leal, Deivid, pelos momentos de força e por perdoar minhas ausências; e aos meus irmãos, amigos e colaboradores pela ajuda e compreensão.

Elisangela

Dedico este trabalho aos meus pais Aparecida e Donizete por ter acreditado em mim e por não me deixar desistir nas horas mais difíceis e minha noiva Elaine pela paciência e carinho.

Eric

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos primeiramente a Deus que por forças desconhecidas nos colocou juntos para a execução deste estudo, e por nos proporcionar a valiosa chance de chegarmos até aqui.

A nossos pais, que com sacrifício nos deram meios de vencermos mais uma importante etapa de nossas vidas. Em especial ao meu pai, Manoel, que com imensa boa vontade construiu a maioria dos aparatos utilizados.

Aos nossos familiares, amigos e companheiros, pela paciência, por perdoarem nossas ausências e pelo apoio incondicional dedicado a nós.

Ao Prof. MSc. Felipe Fernandes Lemos, que com esforço e dedicação orientou nosso trabalho.

As funcionárias do Biotério da FAPI – Faculdade de Pindamonhangaba, Marcela e Fátima pela paciência, disponibilidade e ajuda, pois sem elas nosso trabalho não seria possível.

Ao Prof. MSc. Lincoln Cardoso, pelos valiosos cálculos e a Flávia, assistente do Laboratório de Farmacognosia, que com carinho e cuidado preparou a solução utilizada no presente estudo.

Ao PROUNI e ao FIES que nos permitiu atingir nossos objetivos nos concedendo bolsas de estudo.

"Quando morremos, nada pode ser levado conosco, com a exceção das sementes lançadas por nosso trabalho e do nosso conhecimento"  
(Dalai Lama)

## RESUMO

O álcool é um importante depressor do Sistema Nervoso Central, perturba o equilíbrio existente entre as influências excitatórias e inibitórias no cérebro, causando desinibição, ataxia e sedação logo após o consumo. A exposição tanto pré quanto pós natal a uma grande quantidade de álcool resulta em alterações físicas, comportamentais e motoras. O objetivo do presente trabalho foi estudar as alterações da motricidade gerada pela administração de álcool nos períodos pré e pós natal da prole de ratas da linhagem Wistar, além de validar um protocolo de avaliação contendo testes de sensibilidade e motricidade, retirados da literatura a fim de quantificar essas alterações. Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo de cunho experimental. Os resultados demonstraram que as proles de ambos os grupos submetidos à ingestão alcoólica no período gestacional apresentaram alterações da coordenação motora, diminuição da locomoção e de atividades exploratórias assim como a diminuição da sensibilidade térmica e algica. Para a prole que também recebeu álcool ao final da maturação do SNC estas alterações também se mostraram presentes. A utilização do protocolo de testes proposto foi válido e nos permitiu alcançar os objetivos desta pesquisa, entretanto sugerimos mais estudos, afim de que este protocolo possa servir de modelo para outras pesquisas.

Palavras-chave: Álcool. Atividade locomotora. Avaliação da motricidade. Rato.



## **ABSTRACT**

Alcohol is a major depressant central nervous system, disturbs the balance between the excitatory and inhibitory influences in the brain, causing disinhibition, ataxia and sedation after consumption. Exposure both pre and post natal to a large amount of alcohol results in physical changes, behavioral and motor. The aim of this study was to evaluate changes in the motor generated by the administration of alcohol in the pre-and postnatal offspring of Wistar rats, and validate an assessment protocol containing sensitivity tests and motor, from literature to quantify these changes. This is a quantitative study, descriptive, experimental imprint. The results showed that the offspring of both groups submitted to alcohol consumption during pregnancy showed changes in motor coordination, decreased locomotor and exploratory activities and the reduction of thermal sensitivity and pain. For the offspring also received alcohol at the end of the maturation of the CNS these changes were also present. Using the proposed test protocol was valid and allowed us to achieve the objectives of this research, however we suggest further studies, so that this protocol can serve as a model for other research.

Keywords: Alcohol. Locomotor activity. Assessment of motor. Rat.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>09</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
2.1 Histórico do etanol e seu efeito no organismo humano.....	11
2.2 Efeitos do etanol em fetos e neonatos.....	12
2.3 Desenvolvimento motor normal em ratos.....	13
<b>3 MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>16</b>
3.1 Local.....	16
3.2 Coleta de dados.....	16
3.3 Preparação dos espécimes.....	16
3.4 Protocolo experimental.....	17
3.5 Análises dos dados.....	22
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>
ANEXO 1 ESCALA MOTORA SUBJETIVA.....	38
ANEXO 2 FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	39

## 1 INTRODUÇÃO

Na realidade, os efeitos da incapacidade física sobre o ser humano não se limitam exclusivamente à questão da incapacidade vista em si mesma, pois também interfere nos âmbitos psicológico, social e profissional. Nessa perspectiva, a saúde não se limita exclusivamente a condições de equilíbrio fisiológico, ao contrário, ultrapassa essa visão acanhada e visualiza o homem como um todo indivisível, como um ser político, portador de dignidade que deve ser analisado no contexto de sua inserção social.

Não podemos deixar de considerar o surgimento cada dia maior de novas patologias e distúrbios que afetam diretamente o Sistema Nervoso Central (SNC). Essas patologias, muitas delas recém descobertas ou pouco estudadas, afetam de forma direta o desenvolvimento biopsicossocial do indivíduo.

O álcool é um importante depressor do Sistema Nervoso Central (SNC). Perturba o equilíbrio existente entre as influências excitatórias e inibitórias no cérebro, causando desinibição, ataxia e sedação logo após o consumo. Diferencia-se de outras drogas depressoras pelo fácil acesso para adultos e aceitação em várias culturas (BRUST, 2002).

Possui multiplicidade tóxica, sendo rapidamente distribuído pelo organismo através da corrente sanguínea, afetando órgãos e tecidos, ativando mecanismos de lesão que poderão causar diferentes patologias além de, aumentar o tempo de reação e impulsividade e, diminuir o controle motor e a capacidade de discernimento do indivíduo, sendo o principal causador do grande número de traumatismos e mortes causados por veículos automotores (FLEMING; MIHIC; HARRIS, 2005).

Inserida nesse contexto a utilização de espécimes animais está cada vez mais presente como objeto de estudo em novas pesquisas e tecnologias para conhecimento, tratamento e possível cura dessas patologias.

Neste estudo analisamos especificamente alterações motoras causadas por lesões no sistema nervoso central. Neste caso, utilizamos como causador da lesão o álcool.

Diante desta nova realidade surge a necessidade de novos estudos sobre o desenvolvimento e tratamento dessas patologias e suas alterações. A fisioterapia se

encaixa nesse contexto, atuando diretamente no tratamento e melhora de seqüelas e/ou alterações que interfiram na funcionalidade e na qualidade de vida desses indivíduos.

Visando o desenvolvimento de novos estudos e, pela escassez de literatura sobre a utilização e avaliação funcional desses espécimes, sentimos a necessidade de desenvolver uma pesquisa que abrangesse maiores informações e nos levasse a elaboração de protocolos de avaliação e tratamento mais eficientes e eficazes.

A presente pesquisa foi dividida em duas fases. A primeira fase teve como objetivo avaliar e quantificar as alterações causadas pela droga ministrada nos modelos experimentais, utilizando de um conjunto de métodos em um único protocolo de avaliação, de modo a torná-lo mais completo e objetivo, para que pudesse ser utilizado posteriormente na segunda fase da pesquisa e possibilitar futuramente testar novos protocolos de reabilitação. Outro objetivo foi avaliar os efeitos da ingestão de álcool na formação e no desenvolvimento do sistema nervoso motor de ratos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico do etanol e seu efeito no organismo humano

O nome álcool, deriva do árabe e significa “algo sutil”. A destilação foi desenvolvida por volta de 800 a.C., pelos árabes. Os Alquimistas da Idade Média se fascinaram pelo “espírito” invisível que saía do vinho e o considerou remédio para todos os males. Já o termo uísque é a palavra gaélica para “água da vida”. Perante essa visão poética, foi se disseminando e se tornou componente principal de tônicos e elixires (FLEMING; MIHIC; HARRIS, 2005).

A ingestão de álcool em quantidade moderada gera depressão do SNC, causando leve intoxicação. Os principais sinais comportamentais variam de manifestações expansivas de afeto, até alterações descontroladas de humor e crises emocionais com componentes de violência. Em doses maiores leva a sensação de anestesia geral, chegando a ser letal por depressão respiratória (BRUST, 2009).

O consumo agudo gera inibição dos receptores excitatórios de glutamato e facilitação dos receptores ácido gama-aminobutírico, os GABA-érgicos. Apresenta como sintomas, euforia intensa, desinibição e hiperatividade. Com o aumento da concentração de álcool no sangue, há diminuição da capacidade de julgamento, progressão da marcha atáxica ao coma, depressão respiratória e morte (BRUST, 2009).

O consumo crônico causa atrofia do córtex cerebral por redução da substância branca e cinzenta e hipometabolismo (FLEMING; MIHIC; HARRIS, 2005; BRUST, 2002). O uso prolongado de álcool gera desnutrição por ingestão de grande quantidade de calorias vazias, gerando diminuição de calorias proteicas, que em longo prazo causa deficiência de tiamina, ácido nicotínico, vitaminas do complexo B e ácido fólico, aumentando o risco de doenças neurológicas com essa associação como a síndrome de Wernicke-Korsakoff, degeneração cerebelar, ambliopia, polineuropatias e pelagra (BRUST, 2009).

Segundo Goodlett e Eilers (1997), testes padrões indicam que o consumo de álcool em grande quantidade em um único episódio gera danos mais severos ao

SNC do que o consumo dessa mesma quantidade em períodos de tempo mais longos. Isso ocorre devido à alta hidrossolubilidade do álcool nos líquidos corporais, que colaboram para sua distribuição rápida pelo organismo.

## **2.2 Efeitos do etanol em fetos e neonatos**

Por ser uma molécula simples e de baixa densidade atravessa com facilidade a barreira placentária afetando de forma severa o desenvolvimento do feto, que ainda não possui função hepática desenvolvida o suficiente para a oxidação do etanol (JERÔNIMO; FILHO; JUNIOR, 2008).

O álcool age no SNC interferindo em diversos processos, incluindo a proliferação neuronal, migração, diferenciação, maturação glial e gliose. Em seres humanos tal exposição pode causar distúrbios comportamentais e deficiência da aprendizagem em crianças nascidas de mães alcoólatras. A exposição tanto pré quanto pós natal a uma grande quantidade de álcool resulta no desenvolvimento alterado da memória e nos déficits de aprendizagem e perda neuronal no hipocampo (FIUZA; MORAIS, 2005).

O mecanismo que gera a teratogenicidade do etanol é desconhecido, mas suspeita-se da contribuição de vasoespasmos e isquemia do SNC; neurodegenerações apoptóticas e alterações do glutamato; inibições dos receptores muscarínicos da acetilcolina; inibição da adesão celular necessária para a migração neuronal; toxicidade do ácido retinóico e inibição dos fatores de crescimento (BRUST, 2009).

O consumo de álcool pelas mães durante a gestação pode levar o feto a desenvolver a Síndrome Alcoólica Fetal. Caracteriza-se por alterações tanto físicas como comportamentais, formando uma tríade: anomalias craniofaciais, disfunção do SNC e atraso do crescimento pré e/ou pós natal. A audição, linguagem e fala também podem evidenciar alterações à medida que a criança cresce (GOODLETT; EILERS, 1997; FLEMING; MIHIC; HARRIS, 2005).

Em estudos realizados com animais em laboratório, também se observou dismorfologia facial em camundongos, além de alterações em padrões de proteínas,

migração neuronal e alterações no número de neurônios específicos de regiões do cérebro (BRUST, 2002).

O cerebelo é um dos alvos principais da toxicidade do álcool *in útero*. Dentro do cerebelo, as células de Purkinje são as estruturas mais sensíveis. Constituem a única saída do córtex cerebelar e tem papel central na integração (SERVAIS et al., 2007).

As células de Purkinje pertencem ao neocortex cerebelar, com citoarquitetura caracterizada por três camadas: molecular, Purkinje e granular (APFEL et al., 2002). Essas células têm sua origem embrionária entre o 13° e 16° dias de gestação no rato (PIERCE; WILIAMS; LEIGHT, 1999). Segundo Goodlett e Eilers (1997) e Pierce, Williams e Leight (1999), nos ratos o cerebelo é particularmente mais suscetível a limitação induzida ao crescimento e prostração das células de Purkinje quando a exposição ocorre durante o período neonatal de crescimento do cérebro. O período de desenvolvimento do cérebro do rato é comparável com o do ser humano no terceiro trimestre de gestação (GOODLETT et al., 1997). O que difere do desenvolvimento humano é que o cerebelo do rato continua se desenvolvendo alguns dias após o nascimento (ALTMAN et al., 1982 apud PIERCE; WILIAMS; LEIGHT, 1999).

### **2.3 Desenvolvimento motor normal em ratos**

Os ratos são escolhidos como modelos experimentais, por nascerem na fase inicial da neuro-ontogênese. Isto permite a experimentação em estágios imaturos no período pós natal (GRAMSBERGEN, 1998).

O período embrionário e fetal dura em média 3 semanas, necessitando apenas mais 3 semanas para atingir a idade adulta (CLARAC et al., 1998).

Segundo Dobbing (1970), o desenvolvimento motor normal pode ser influenciado por diversos fatores, como genéticos, ambientais, hormonais. Esses fatores podem diretamente afetar o desenvolvimento morfológico e funcional de todos os sistemas, principalmente do SN, que durante as etapas iniciais tem seus eventos celulares ocorrendo em maior velocidade, o que torna esse período o mais

vulnerável para agressões externas. Por isso, esse período é conhecido como período crítico do desenvolvimento.

A partir do 16º dia de gestação os primeiros movimentos espontâneos nos ratos podem ser notados (GRAMSBERGEN, 1998). Até esse período inicia-se o desenvolvimento das projeções das vias descendentes do cérebro, como as vias vestibulo e reticuloespinhais, em direção a medula espinhal e as projeções serotoninérgicas e noradrenérgicas, responsáveis pelos primeiros eventos motores (CLARAC, 1998).

Os padrões rítmicos iniciais, que promovem o aparecimento de movimentos simples só se tornam funcionais por volta da segunda semana pós natal. A locomoção começa a se desenvolver de forma mais complexa, com a maturação do Sistema vestibular, que tem papel fundamental para melhora dos padrões posturais frente à gravidade, dos reflexos posturais e das vias descendentes (BROCARD; CLARAC; VINAY, 1999).

O rato apresenta movimentação reflexa, necessária para guiá-lo até a mãe para se alimentar e para junto da ninhada para se aquecer. É capaz de alguns giros, de movimentar a cabeça e de iniciar o rastejar ineficiente contra a gravidade (BROCARD; CLARAC; VINAY, 1999; CLARAC et al., 1998).

Após o nascimento, existe um gradiente de maturação rostro-caudal. Durante a primeira semana apenas a parte frontal do corpo apresenta algumas adaptações posturais como a elevação dos ombros do solo. Durante a segunda semana o peso corporal começa a ser distribuído para a pelve e após dez dias já é capaz de retirar o corpo do solo. A maturação do sistema vestibular se inicia por volta do oitavo dia de gestação estando completo por volta do 15º pós natal (BROCARD; CLARAC; VINAY, 1999; GRAMSBERGEN, 1998; CLARAC et al., 1998).

Os reflexos primitivos nos ratos favorecem a movimentação no meio externo e estímulo sensorial e proprioceptivo para a organização sensório-motora. Aos poucos esses reflexos vão sendo substituídos por movimentos voluntários, mais harmônicos e eficientes. Os reflexos que podem ser encontrados nos ratos no início da vida são: preensão palmar, endireitamento ou recuperação do decúbito, colocação pelas vibrissas, aversão ao precipício, geotaxia negativa e endireitamento em queda livre (FOX, 1965; WALTON et al., 1992).



O início da caminhada ocorre quando há abertura dos olhos, por volta do 12º dia pós natal, sendo capaz de correr e se locomover sem dificuldade ao 15º dia pós natal e após o desmame, por volta dos 21 dias, já apresenta um padrão de movimentação semelhante ao animal adulto. Isso se deve a mudanças no mecanismo de ativação muscular do tronco e extremidades. Resultado do desenvolvimento de mecanismos posturais e neurais relativamente independentes, facilitando a movimentação durante a locomoção (CLARAC et al., 1998; GRAMSBERGEN, 1998; WALTON et al., 1992).

Para estudos utilizando-se de espécimes animais, vários pesquisadores desenvolveram testes para medir a funcionalidade sensorial e motora. Os resultados variam de simples descrições de marcha até combinação de testes para análise de alterações do SNC (MOLINA; CRISTANTE; FILHO, 2004).

Para verificar essas alterações utilizamos um protocolo de avaliação formulado para ser utilizado nesta e em pesquisas posteriores dentro do Departamento de Fisioterapia da Faculdade de Pindamonhangaba. Esse protocolo foi elaborado com testes colhidos em vários artigos científicos na base de dados Bireme.

Para essa comprovação, selecionamos vários testes para uma avaliação mais completa e efetiva. De acordo com os resultados sugerimos que temos um protocolo de avaliação motora de fácil aplicação, com baixo custo e completo o suficiente para tornar os seus resultados confiáveis para serem utilizados em estudos posteriores sobre alteração locomotora e para confirmação e criação de novos protocolos de reabilitação.

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

Trata-se de um estudo quantitativo, descritivo de cunho experimental.

#### **3.1 Local**

Os procedimentos desta pesquisa foram realizados nas dependências da Faculdade de Pindamonhangaba sob supervisão direta do professor/pesquisador responsável e previamente aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da mesma Instituição.

#### **3.2 Coleta de dados**

Todos os ensaios foram desenvolvidos seguindo normas que envolvem cuidados com animais de laboratório e normas éticas para o seu uso experimental, de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), em conformidade à Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008.

#### **3.3 Preparação dos espécimes**

Durante o trabalho os animais permaneceram em boas condições de ambiente, luz e temperatura controladas durante dia e noite. A iluminação dividida em ciclos de 12 horas com temperatura média de 22°C.

Foram utilizadas 3 ratas da linhagem WISTAR, prenhas, que são as matrizes. Foram alimentadas com ração e água *ad libitum*. As matrizes 1 e 2 receberam água com 6,25g de álcool durante seis semanas (PENTNEY; DLUGOS, 2000); enquanto a matriz 3 recebeu apenas água (controle).

Foram colocados para acasalamento 3 fêmeas com 3 machos diferentes durante 5 dias consecutivos. A prenhez foi identificada através da presença de células descamativas e espermatozóides no teste do esfregaço observados no exame microscópio da secreção vaginal. Após a identificação da prenhez, as fêmeas

foram separadas dos machos e iniciou-se a troca das mamadeiras das matrizes 1 e 2, por uma solução contendo água com 6,25g de álcool absoluto 100%.

Após o nascimento constatou-se que a matriz 1, pariu 5 filhotes; a matriz 2 pariu 14 filhotes e a matriz 3, 9 filhotes. Quatro dos 14 filhotes da matriz 2 morreram logo após o nascimento. A solução alcoólica foi mantida durante toda a gestação e amamentação das matrizes 1 e 2.

Para os testes foram utilizados todos os filhotes independentemente do sexo, permanecendo cada grupo com suas respectivas matrizes. Os animais não foram redivididos devido ao receio de que houvesse rejeição por parte da nova matriz e conseqüentemente uma diminuição no número de amostras.

Do 4° ao 6° dia do nascimento, após a pesagem, os filhotes da matriz 1 receberam uma solução de água e 4,5 g/Kg/dia de álcool dissolvidos em leite numa porcentagem de 12% v/v e os filhotes da matriz 2 e 3 receberam água, em uma alimentação diária. A solução foi administrada via oral com auxílio de uma seringa semelhante à utilizada para a aplicação de insulina e também com uma pipeta de plástico utilizada para a manipulação de embrião (CHEN; PARNELL; WEST, 1999; GOODLETT et al., 1997).

De acordo com Pierce, Williams e Leight (1999) e Goodlett et al., (1997), independente da técnica de aplicação escolhida a aplicação deve envolver os dias 4 - 6 pós natal.

Após o desmame e sexagem (30 dias após o nascimento) foi realizada avaliação motora dos filhotes através de um protocolo experimental.

### **3.4 Protocolo experimental**

Para a avaliação motora foram utilizados vários testes, todos adaptados, podendo ser realizados de forma mais simples e com baixo custo, visando maior facilidade para a aquisição dos materiais, construção dos aparelhos e aplicação do testes, e com isso, tornar mais acessível a outros pesquisadores a utilização deste protocolo experimental em roedores.

Os testes utilizados foram:

Labirinto em cruz Elevado - Utilizado para observar movimentos locomotores e exploratórios dos animais, além dos níveis de ansiedade. Os movimentos considerados locomotores são os deslocamentos entre um ponto a outro da cruz, e as explorativas são aquelas que o animal pode realizar sem a necessidade de deslocamento, como elevação vertical, cheirar o ambiente e auto limpeza, que podem se mostrar alterados com o aumento ou diminuição no nível de ansiedade. O teste sofreu algumas adaptações. É realizado em um labirinto em cruz sendo duas superfícies horizontais cruzadas em ângulo reto, feitas de madeira, com dois braços abertos e dois fechados. Os braços fechados têm paredes com 40 cm de altura. Todo o aparato mede 50X10 cm e fica a 50 cm do solo. Os animais foram observados por 5 minutos, onde os dados colhidos foram: Frequência de entrada no braço fechado, tempo de permanência no braço fechado, frequência de entrada no braço aberto, tempo de permanência no braço aberto, levantar, limpeza, esticar e espiar. (MARTÍNEZ; GARCIA; MORATO, 2005).



**Figura 1** – Labirinto em cruz elevado

Foot print analysis (análise das impressões das patas) - Os animais ao caminhar, deixaram sobre papel as marcas de suas patas, que estavam sujas de tinta. Para este teste utilizamos uma plataforma única, de superfície horizontal feita de madeira, apresentando 50 cm de comprimento, 10 cm de largura e a 50 cm do solo. Esta plataforma foi envolvida por papel branco milimetrado onde as pegadas foram impressas com tinta nanquim colorida, vermelha para pata direita e azul para

a pata esquerda. Essas impressões foram comparadas para análise de itens específicos, como largura da base de suporte - distância entre a pata direita e a pata esquerda, comprimento do passo – distância entre duas pegadas consecutivas e o ângulo de rotação das patas, que tornou a análise de marcha mais completa (COSTA; CAMARGO; ANDRÉ, 2008; GRILL et al., 1997; KUNKEL-BAGDEN; DAÍ; BREGMAN, 1993).



**Figura 2** – *Foot print analysis*

*Grid Walk Test* (Teste de caminhar na grade) - Este teste consiste em uma grade de plástico com orifícios medindo 50x50 mm. Mensurou a habilidade do animal no controle da pata traseira. O animal caminhou de um lado para o outro na grade, onde o número de erros (pisar os membros fora da grade) e o tempo gasto para a execução do percurso (ida e volta) foram coletados. Foi determinado para tempo total de realização do teste 5 minutos (ERSCHBAMER et al., 2006; FOUAD et al., 2000; KUNKEL-BAGDEN; DAÍ; BREGMAN, 1993). Este teste avalia a habilidade do animal em controlar as patas traseiras sendo considerado um indicador de função corticoespinhal (ERSCHBAMER et al., 2006).



**Figura 3** – *Grid walk test*

Os testes a seguir, analisaram a sensibilidade termoalgésica dos animais. Esses testes são importantes, pois alterações em algumas áreas do SNC podem levar a hiperalgesia, hipoalgesia ou analgesia, gerando alterações nas reações de proteção e interferindo de forma indireta na atividade motora.

*Hotplate Test* (Teste da chapa quente) – Os animais foram colocados em uma chapa metálica mantida sobre quatro aquecedores e teve a temperatura controlada por um termômetro em cerca de 53°C. O rato com a sensibilidade preservada deve apresentar como resposta, após 10 a 25 segundos depois que o calor é iniciado, a elevação e/ou limpeza das patas. A latência de retirada foi medida de acordo com a média de cada animal que foi calculada baseada nos resultados de quatro tentativas, com intervalo de 5 minutos entre elas, não ultrapassando 60 segundos de permanência sobre a chapa para evitar danos aos tecidos (GALE et al., 1985 apud ERSCHBAMER et al., 2006; PETERS et al., 2007).



**Figura 4 – Hotplate test**

Sensibilidade térmica (frio) - A sensibilidade térmica foi avaliada através da imersão das patas traseiras dos ratos em um recipiente com água resfriada a uma temperatura de 4,5°C. Avaliada uma pata de cada vez com no máximo duas repetições, com intervalo mínimo de 5 minutos entre cada tentativa. Apenas uma pata foi testada em cada tentativa com prazo máximo de retirada de 20 segundos. Essa imersão foi cronometrada (PETERS et al., 2007).

Tabela de avaliação motora subjetiva - composta por testes simples, com scores para comparação dos resultados de cada sub-teste (Anexo 1).

Todos os grupos foram submetidos aos métodos avaliativos e tiveram seus resultados comparados.

Durante todo o processo de avaliação, tomamos nota quanto às características de cada animal, como o padrão de deambulação, coordenação e todo seu comportamento.

### **3.5 Análises dos dados**

Os dados obtidos nas avaliações foram comparados quantitativamente e qualitativamente a fim de identificar o déficit de forma global; e por sua vez, identificar o efeito da droga ministrada sobre o sistema nervoso, validando assim os métodos avaliativos.



## 4 RESULTADOS

Devido ao uso contínuo da solução alcoólica durante a gestação e lactação, as matrizes 1 e 2 apresentaram-se mais agitadas em comparação com a matriz 3. Após o nascimento constatou-se que a matriz 1, pariu 5 filhotes, a matriz 2 pariu 14, sendo que 4 morreram logo após o nascimento e a matriz 3, 9 filhotes sem nenhuma morte.

Comparando as pesagens dos animais no 4º dia de nascimento observou-se que os filhotes da matriz 1 e 2 apresentaram uma média de peso menor que os filhotes da matriz 3 ( Grupo A = 7,26 g; grupo B = 7,56 g e grupo C = 8,36 g).

**Tabela 1** - Dados demográficos dos grupos A (mãe+filhote=álcool), B (mãe=álcool+filhote=água) e C (grupo controle)

Grupo	Sexo		Média de peso no	Número total de
	Macho	Fêmea	PN4	animais
<b>Matriz 1 - Grupo A</b>	1	4	7,26 g	5
<b>Matriz 2 - Grupo B</b>	1	2	7,56 g	3
<b>Matriz 3 - Grupo C</b>	2	7	8,36 g	9

Após a segunda administração da solução alcoólica (5º dia após nascimento) ocorreram 2 mortes dos filhotes da matriz 2; no 6 dia observou-se a falta de mais um filhote da mesma; no 21º dia morreram mais 2 filhotes, restando apenas 5. No 12º dia observou-se a falta de mais 2 filhotes desta mesma matriz, restando assim, 3 filhotes. Houve uma morte dos filhotes da matriz 1 (Grupo A), após a realização da avaliação, totalizando assim, 4 filhotes.

Após o crescimento da pelagem observou-se que os filhotes da matriz 1 e 2 apresentaram alterações na quantidade e qualidade dessa pelagem, quando comparados com os filhotes da matriz 3.

Os resultados obtidos em cada teste estão expostos nas tabelas a seguir. Para os valores de tempo consideramos apenas os minutos e segundos sendo as

frações de segundos descartadas para a obtenção das médias, exceto para os testes de sensibilidade térmica (frio e quente), no quais foram considerados os minutos, segundos e centésimos.

No *Grid walk test*, observamos que na avaliação do número de erros com a pata dianteira direita (2,80), pata traseira direita (3,40) e esquerda (3,40) e tempo de percurso (3 min e 51 s), o grupo A apresentou médias maiores quando comparado com o grupo B e C. Sendo que um animal do grupo A não se locomoveu.

**Tabela 2** - Dados obtidos da comparação entre as médias das avaliações dos grupos A (mãe+filhote=álcool), B (mãe=álcool+filhote=água) e C (grupo controle)

Grupo	Não locomoveu-se	Locomoveu-se	Nº de	Nº de	Nº de	Nº de	Tempo de percurso em min
			erros P.D.D	erros P.D.E	erros P.T.D	erros P.T.E	
Grupo A	0,2	0,8	2,8	0,8	3,4	3,4	3,51
Grupo B	0	1	2	1	2,33	3	2,02
Grupo C	0	1	1	0,33	2,44	3	1,31

Legenda: P.D.D= pata dianteira direita; P.D.E= pata dianteira esquerda; P.T.D= pata traseira direita; P.T.E= pata traseira esquerda

De acordo com os resultados obtidos no labirinto em cruz elevado, verificamos que o grupo A apresentou uma maior frequência de entradas no braço fechado (2,60) e tempo de permanência (4 min e 50 s) em relação ao grupo B e C (2,0 e 2,22). Já quando avaliamos a frequência de entrada deste grupo, no braço aberto temos uma menor frequência (grupo A = 1,2) com um menor tempo de permanência (grupo A = 10 s).

Analisando os outros itens da avaliação percebemos que as médias das atitudes de limpeza (grupo A = 6, B = 9,33 e C = 5,89) e espiar (grupo A = 5,2, B = 7 e C = 4,56) foram maiores para o grupo B. No item esticar (grupo A e B = 3 e grupo C = 2) os grupos A e B apresentaram resultados iguais e para o item levantar a média mostrou-se maior no grupo A (grupo A = 12,80).

**Tabela 3** - Dados obtidos da comparação entre as médias das avaliações dos grupos A (mãe+filhote=álcool), B (mãe=álcool+filhote=água) e C (grupo controle)

Grupo	FE-BF	TP-BF	FE-BA	TP-BA	LEV	LIM	EST	ESP
<b>Grupo A</b>	2,6	00:04:50	1,2	00:00:10	12,8	6	3	5,2
<b>Grupo B</b>	2	00:03:11	1,33	00:01:49	9	9,33	3	7
<b>Grupo C</b>	2,22	00:03:22	1,33	00:01:38	11	5,89	2	4,56

Legenda: FE-BF: frequência de entrada no braço fechado; TP-BF: tempo de permanência no braço fechado; FE-BA: frequência de entrada no braço aberto; TP-BA: tempo de permanência no braço aberto; LEV: levantar; LIM: limpar; EST: esticar; ESP: espiar

Na avaliação subjetiva, ao realizar o teste de coordenação da função motora, observamos que nenhum dos grupos apresentou alteração. Todos apresentaram score 6, equivalente a caminhar movimentando normalmente toda a articulação da pata traseira. Para o teste de extensão dos dedos observamos dois animais do grupo A, dois do grupo B e todos os animais do grupo C, obtiveram extensão normal dos dedos (score 2). Os outros animais, três do grupo A e um do grupo B, tiveram score 1, mínima extensão, dedos flácidos.

Na retirada em extensão, quatro animais do grupo A apresentaram ausência de flexão de retirada, pata traseira flácida. Um animal do grupo A e um do grupo B apresentaram movimento fraco ou lento contra o corpo (score 1), e dois animais do grupo B, assim como todos do grupo C não sofreram alteração, tendo resposta de retirada normal. Para retirada contra dor não apresentaram resposta, quatro animais do grupo A e um animal do grupo B. No grupo A um animal apresentou movimentação abrupta da pata, mas sem retirá-la contra o corpo e dois animais do grupo B e os animais do grupo C obtiveram resposta normal, com retirada rápida da pata.

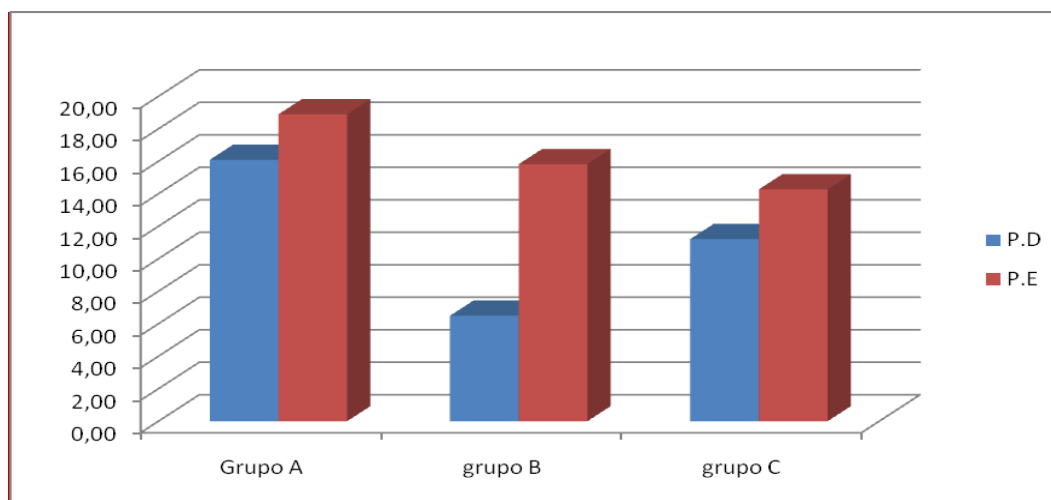
Em resposta a ventralização, todos os animais continuaram em posição supina. No ato de agarrar a barra, um animal do grupo B e todos do grupo C agarraram fortemente a barra e puxou-a contra o corpo. Dois animais, um do grupo A e outro do grupo B, agarraram a barra, mas de modo fraco e, quatro animais do grupo A e um do grupo B, sequer responderam ao toque da barra.

Notamos que na avaliação de sensibilidade ao frio, o grupo A não apresentou resposta de retirada da pata traseira esquerda na primeira tentativa, sendo que na

segunda tentativa apenas um animal apresentou resposta de retirada. Com isso observou-se uma média total entre as tentativas de 18,90 segundos. Com a pata traseira direita obteve-se resposta de apenas dois animais na primeira tentativa e de três na segunda tentativa, observando-se uma média de 16,10 segundos.

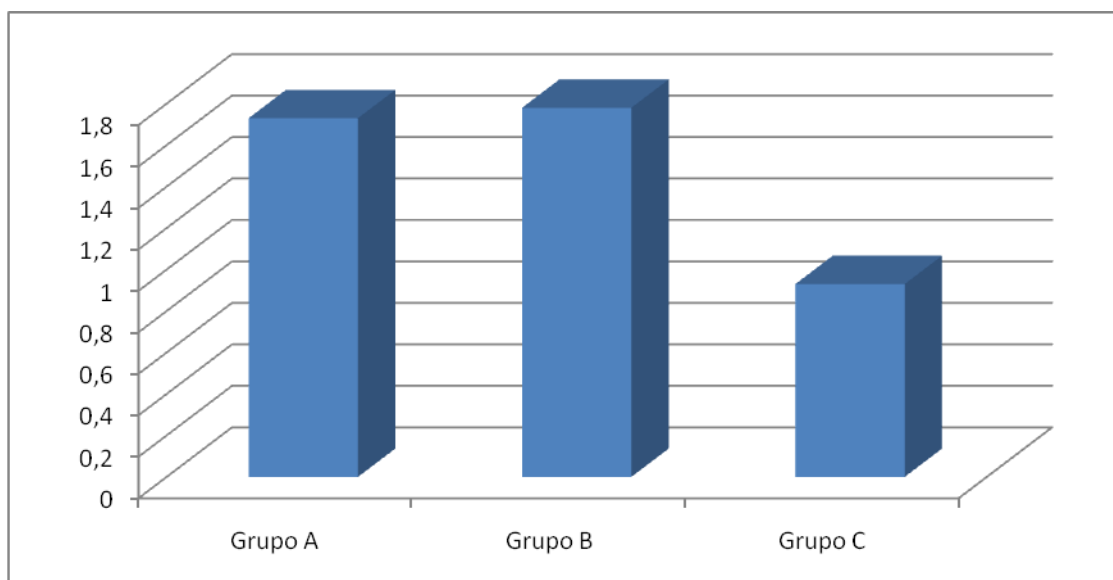
No grupo B, na primeira tentativa de retirada da pata traseira esquerda apenas um animal apresentou resposta de retirada no tempo esperado; na segunda tentativa, dois animais demonstraram resposta. Assim a média para retirada dessa pata foi 15,83 segundos. No teste com a pata traseira direita, todos os animais apresentaram resposta obtendo a menor média (6,50 s).

No grupo C, quase todos os animais apresentaram resposta de retirada no tempo desejado para a pata traseira esquerda, com ausência de retirada de apenas um animal na segunda tentativa, alcançando assim a menor média do teste, 14,28 segundos. Para a pata traseira direita todos os animais apresentaram resposta na primeira tentativa; na segunda apenas quatro dos animais apresentaram resposta, com média de 11,22 segundos.



**Gráfico 1** - Dados obtidos da comparação entre as médias dos grupos A (mãe+filhote=álcool), B (mãe=álcool+filhote=água) e C (grupo controle) no teste de sensibilidade ao frio. Legenda: P.D. = Pata direita; P.E. = Pata esquerda

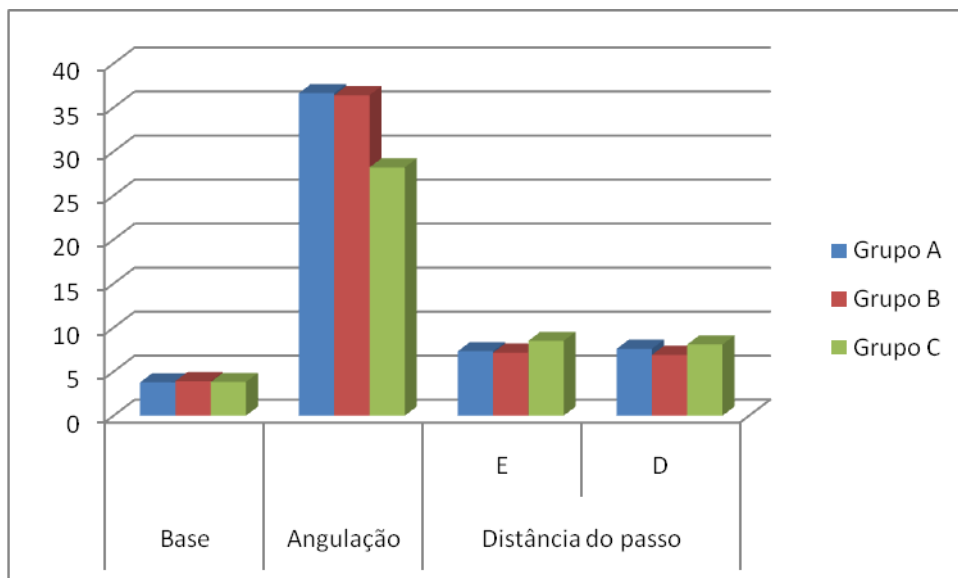
Para o teste de sensibilidade térmica ao calor ou *hotplate test*, com resposta de retirar e/ou lambear as patas, verificamos que os grupos A e B obtiveram médias equivalentes (grupo A = 1,73 s e grupo B = 1,78 s) e superiores ao grupo C (0,93 s).



**Gráfico 2** - Dados obtidos da comparação entre as médias dos grupos A (mãe+filhote=álcool), B (mãe=álcool+filhote=água) e C (grupo controle) no teste *hotplate test*

O resultado encontrado para o teste *foot print analysis* na comparação entre grupos não apresentou muitas variações. Observaram-se resultados praticamente equivalentes para largura de base de suporte entre os grupos (Grupo A: 3,78; grupo B: 3,92 e grupo C: 3,82).

Para o ângulo de rotação das patas observou-se o menor ângulo no grupo C (28,2°) e os grupos A e B com médias equivalentes (Grupo A: 36,64°; grupo B: 36,4°). Já para o comprimento do passo obtivemos as maiores distâncias entre os passos para o grupo C (Pata esquerda: 8,5 cm e pata direita: 8,09 cm) e as menores para o grupo B (Pata esquerda: 7,16 cm e pata direita: 6,9 cm).



**Gráfico 3** - Dados obtidos da comparação entre as médias dos grupos A (mãe+filhote=álcool), B (mãe=álcool+filhote=água) e C (grupo controle) no teste *Foot Print Analysis*

## 5 DISCUSSÃO

Sabemos que um dos principais efeitos da toxicidade do etanol nos ratos neonatos é o baixo peso ao nascer. Este dado foi identificado no presente estudo e também nos estudos de Silva et al., (2007), Grinfeld (2004) e Silva et al., (2006). Tais efeitos poderiam ser decorrentes da interferência do etanol na nutrição materna, na transferência placentária e no metabolismo fetal, diminuindo o fluxo sanguíneo placentário e umbilical, que são responsáveis pela nutrição e assim desenvolvimento e maturação do SNC. (SILVA et al., 2006; SILVA et al., 2007)

Observou-se neste estudo que a utilização do álcool no período de gestação interferiu no número de filhotes das matrizes, levando a um número menor de filhotes quando contado até o décimo dia pós-natal, achado semelhante ao estudo de Grinfeld (2004), realizado em camundongos. O baixo peso encontrado em alguns filhotes se justifica pelo maior peso de outros. Com número diminuído de filhotes, a oferta de leite é maior, favorecendo o ganho de peso dos outros filhotes (GRINFELD, 2004).

Silva et al., (2007), justificam a alta taxa de mortalidade de filhotes, a desnutrição materna e a irritabilidade e letargia gerados pelo consumo de etanol durante a lactação, fato também descrito por Burgos et al., (2004), que acrescenta a própria sensibilidade do filhote aos efeitos do álcool e ao canibalismo.

Encontramos alteração na pelagem dos filhotes que receberam álcool de forma direta e indireta. Não encontramos nada parecido na literatura para justificar o ocorrido, sugerimos que a causa seja a devido à desnutrição.

Os dados obtidos na avaliação motora nos permitiram observar que: no *grid walk test*, os animais submetidos à ingestão do álcool indiretamente e os que receberam álcool do quarto ao sexto dia (PN4-6) do desenvolvimento do SNC, realizaram a travessia com um número grande de erros quando comparados com o grupo controle. Dados parecidos na realização da travessia foram encontrados no estudo de Fouad et al., (2000) e Kunkel-Bagden, Daí e Bregman (1993). Após sete dias que sofreram a lesão do cordão espinhal, os animais deixaram de realizar a fase de balanço e realizaram o teste arrastando as patas traseiras sobre as grades (KUNKEL-BAGDEN; DAÍ; BREGMAN, 1993).

No presente estudo observamos maior número de erros talvez gerados por alteração na coordenação motora, dismetria, já que os erros ocorriam e eram mais visíveis quando os animais executavam movimentos rápidos e direcionados, como correr sobre a grade. Arrastamento das patas traseiras e diminuição da fase de balanço não foram itens observados.

Segundo Silvestrin (2008), este teste é utilizado de modo específico para avaliar a atividade locomotora de animais lesionados principalmente quando as lesões medulares são maiores que 50 %.

De acordo com Kunkel-Bagden, Daí e Bregman (1993), um dos grupos de animais passou rapidamente e tiveram poucos erros. Já o grupo dos animais que receberam a hemiseção do cordão espinhal levou um tempo mais longo para cruzar e apresentaram muitos erros em ambas as patas. O mesmo foi observado em relação ao grupo A, que recebeu álcool após o nascimento.

No teste do labirinto em cruz elevado, obtivemos uma menor frequência de entrada e permanência no braço aberto pelo grupo A, quando comparados com o grupo B e C.

Martínez, Garcia e Morato (2005), encontraram resultado semelhante em estudo sobre a influência da luminosidade em ratos. A diminuição da luminosidade diminuía o nível de ansiedade nos animais que aumentavam o número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos. Segundo eles, isso se deve ao efeito ansiolítico gerado pela baixa luminosidade, que estimulou os animais a explorarem o ambiente. Este mesmo fator ansiolítico foi utilizado por Martínez, Garcia e Morato (2005), para descrever alterações nas atitudes de espiar e esticar, que entre todos os itens, são diretamente ligadas a ansiedade e portanto se mostraram alteradas. De acordo com essas afirmações podemos justificar os resultados encontrados em nosso trabalho, pelas propriedades ansiolíticas do álcool, que é um importante depressor do SNC.

Na avaliação subjetiva, os dados obtidos foram diferentes dos encontrados por Vialle et al, (2002). Isso se justifica pelo fato da escala ter sido criada para avaliação de lesões medulares. Os resultados encontrados vão de encontro aos resultados dos outros testes, onde nota-se que o grupo A (recebeu álcool por via oral de PN4-6), mostrou o maior número de alterações.



Vialle et al, (2002), concluiu que a avaliação quantifica de forma satisfatória apenas três (A, C e F) dos seis subtestes da avaliação subjetiva. Mas de acordo com nossos resultados, todos os testes se mostraram efetivos. Visto isso, torna-se necessário novos estudos com a utilização desta escala em lesões centrais, a fim de validá-la.

Peters et al., (2007), utilizou o teste sensibilidade ao frio para mensurar neuropatias induzidas por administração intravenosa de Paclitaxel em ratos. Encontrou como resultado hiperalgesia, com diminuição significativa da latência de retirada, o que discordou de nosso estudo. Encontramos como resposta, de grande parte dos animais e, de todos os grupos, ausência de resposta, ou seja, hipoalgesia.

Esse resultado pode ter sido encontrado devido à alteração da ação sináptica do glutamato no cérebro gerada pelo álcool. O glutamato é um importante neurotransmissor excitatório, presente em cerca de 40% das sinapses glutaminérgicas. Uma das sinapses responsáveis pela chegada do estímulo termoalgésico ao córtex é mediada pelo glutamato. O álcool reduz a atividade do receptor de glutamato NMDA, tornando a excitação sináptica mais lenta (DIDLY-MAYFIELD; HARRIS, 1995 apud WONG et al., 2008; FLEMING et al., 2006 apud WONG et al., 2008; SCHUCKIT, 2005 apud WONG et al., 2008).

Para o *hotplate test*, Erschbamer et al., (2006) e Peters et al., (2007), não encontraram resultados estatisticamente relevantes em seus estudos. Apesar de termos encontrados em nosso estudo maior latência de retirada para os grupos A e B em comparação ao grupo controle, o tempo de retirada das patas foi menor do que o citado por Erschbamer et al., (2006), que varia de 10 a 25 segundos.

Em nosso estudo, o teste de impressão das patas não apresentou alteração significativa na largura da base de suporte; apresentou um aumento no ângulo de rotação de aproximadamente 12°, comparando os grupos que receberam álcool ao grupo controle, e uma diminuição discreta no comprimento do passo.

Kunkel-Bagden, Daí e Bregman (1993) encontraram resultados semelhantes, com diminuição do comprimento do passo em ambos os lados e menor ângulo de rotação das patas em ratos adultos com lesão medular. Já nos neonatos com lesão medular a base de suporte também se mostrou alargada, segundo os autores devido à lesão ter ocorrido ao nascimento gerar dano ao longo do eixo rostro-caudal da medula espinhal. O mecanismo de lesão é muito importante e pode variar os

resultados de acordo com a região anatômica lesada. A base de suporte dos ratos adultos não se mostrou alargada por que o mecanismo de lesão foi uma cirurgia de hemiseção e não uma contusão.

Para Costa, Camargo e André (2008), o método se mostrou bastante útil e sensível para análise do Índice Funcional do Ciático (IFC). Comparou a análise digital e a analógica, realizada com reduzido custo. Identificou falhas importantes na análise analógica das pegadas, como a perdas de momentos importantes da marcha e mensurações pouco confiáveis.

As limitações encontradas no estudo foi o número reduzido de amostras, e sua má distribuição entre os grupos, o que dificultou a comparação entre eles, e reduziu as chances de se observar maior número de alterações. O protocolo de avaliação utilizado foi bem descrito na literatura, mas utilizado em estudos com alterações geradas por lesões medulares e parkinsonismo induzido por drogas, mas no caso de utilizá-los para avaliação de lesão central, a literatura se mostra escassa, o que dificultou a comparação entre os estudos.

Este estudo baseou-se em identificar as alterações geradas pela administração do etanol pré-natal e pós-natal no SNC de ratos, através das alterações da motricidade identificada no protocolo de avaliação experimental. Devido à escassez de trabalhos semelhantes, sugerimos novos estudos para a comparação dos resultados.

## 6 CONCLUSÃO

Concluimos através dos testes aplicados durante a pesquisa que a prole das ratas que receberam álcool no período gestacional apresentaram alterações da coordenação motora, diminuição da locomoção e de atividades exploratórias assim como a diminuição da sensibilidade térmica e algica. Para o grupo que recebeu álcool através de uma cânula intra-gástrica após o nascimento durante o 4° ao 6° dia no final do desenvolvimento do SNC, estas alterações estiveram presentes de forma mais notável em comparação aos outros grupos.

A utilização do protocolo de testes proposta foi válida e nos permitiu alcançar os objetivos desta pesquisa, entretanto sugerimos mais estudos, afim de que este protocolo possa servir de modelo para outras pesquisas.

## REFERÊNCIAS

- APFEL, M. I. R. et al. Estudos estereológicos das células de Purkinje cerebelares submetidas à intoxicação alcoólica em ratos wistar. **Arquivo Neuropsiquiatria**, Rio de Janeiro, v. 60, p. 258-263, 2002.
- BROCARD, F.; CLARAC, F.; VINAY, L. Development of hindlimb postural control during the first postnatal week in the rat. **Developmental Brain Research**, France, v. 117, p. 81-89, 1999.
- BRUST, J. C. M. The Neurotoxicity of Ethanol and Related Alcohols. In: **Clinical Neurotoxicology: syndromes, substances, environments**. 1 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 329-334, 2009.
- BRUST, J. C. M. Alcoolismo. In: **Merrit – Tratado de Neurologia**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 800-807, 2002.
- BURGOS, M. G. P. A.; BION, F. M.; CAMPOS, F. Lactação e álcool: Efeitos clínico e nutricionais. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.54, n. 1, mar. 2004.
- CHEN, W. A.; PARNELL, S. E.; WEST, J. R. Early postnatal alcohol exposure produced long-term deficits in brain weight, but not the number of neurons in the locus coeruleus. **Developmental Brain Research**, Texas, v. 118, p. 33-38, 1999.
- CLARAC, F. et al. Role of gravity in the development of posture and locomotion in the neonatal rat. **Brain Research Reviews**, France, v. 28, p. 35-43, 1998.
- COSTA, J.; CAMARGO, V. M.; ANDRÉ, E. S. Desenvolvimento de um método de baixo custo para avaliação da marcha em ratos. **Fisioterapia e movimento**, Santa Catarina, v. 21 (2), p. 115-123, abr/jun. 2008.

DOBBING, J. Undernutrition and the developing brain. **American Journal of Diseases in Children**, v. 120, p. 411-415, 1970.

ERSCHBAMER, M. K. et al. Neither environmental enrichment nor voluntary wheel running enhances recovery from incomplete spinal cord injury in rats. **Experimental Neurology**, Netherlands, v. 201, p. 154-164, 2006.

FIUZA, T. S.; MORAIS, J. O. R. Immunohistochemical evaluation of postnatal effects of acute exposure to ethanol on the kinetics of granule-cell migration in rat cerebellum. **Brazilian Journal Morphology Science**, Goiania, v. 22, n. 1, p. 19-24, 2005.

FLEMING, M.; MIHIC, S. J.; HARRIS, R. A. Etanol. In: Goodman & Gilman. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw – Hill, p. 325-334, 2005.

FOUAD, K. et al. Treadmill training in incomplete spinal cord injured rats. **Behavioural Brain Research**, Zurich, v. 115, p. 107-113, 2000.

FOX, W. M. Reflex-ontogeny and behavioral development of the mouse. **Animal Behavior**, v. 13, p. 234-241, 1965.

GOODLETT, C. R.; EILERS, A. T. Alcohol-induced Purkinje cell loss with a single binge exposure in neonatal rats: a stereological study of temporal windows of vulnerability. **Alcoholism: Clinical and experimental research**, Indiana, v. 21, n. 4, june, 1997.

GOODLETT, C. R. et al. Binge-like alcohol exposure of neonatal rats via intragastric intubation induces both purkinje cell loss and cortical astrogliosis. **Alcoholism: Clinical and experimental research**, Indiana, v. 21, n. 6, september, 1997.

GRAMSBERGEN, A. Posture and locomotion in the rat: independent or interdependent development? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, Netherlands, v. 22, n. 4, p. 547-553, 1998.

GRIFELD, H. Que efeitos podem ser esperados da exposição pré-natal ao etanol em camundongas prenhes e sua descendência? **Einstein**, São Paulo, v. 2, n.3, p. 187-92, 2004.

GRILL, R. et al. Cellular delivery of neurotrophin-3 promotes corticospinal axonal growth and partial functional recovery after spinal cord injury. **The Journal of Neuroscience**, Califórnia, v. 17, n 14, p. 5560-5572, julho. 1997.

JERONIMO, M. S.; FILHO, N. T. P.; JUNIOR M. R. M., Efeitos da exposição pré-natal e pós natal ao etanol no córtex cerebral de rato: um estudo do neurópilo. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Pernambuco, v. 44, n. 1, p.59-64, fevereiro, 2008.

KUNKEL-BAGDEN, E.; DAÍ, H.; BREGMAN, B. S. Methods to assess the development and recovery of locomotor function after spinal Cord injury in rats. **Experimental Neurology**, Washington, v. 119, p. 153-164, 1993.

MARTÍNEZ, R.; GARCIA, A. M. B.; MORATO, S. Papel da luminosidade do biotério no comportamento do rato no labirinto em cruz elevado. **Estudos de Psicologia**, v. 10, n. 2, p. 239-245, 2005.

MOLINA, A. I.; CRISTANTE, A. F. ; FILHO, T. E. P. B. Análise comparativa da avaliação funcional realizada na lesão medular em animais. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 12, jan/mar, 2004.

PENTNEY, R. J.; DLUGOS, C. A. Cerebellar purkinje neurons with altered terminal dendritic segments are present in all lobules of the cerebellar vermis of ageing, ethanol-treated F344 rats. **Alcohol & Alcoholism**, New York, v. 35, n. 1, p. 35-43, 2000.

PETERS, C. M. et al. Intravenous paclitaxel administration in the rat induces a peripheral sensory neuropathy characterized by macrophage infiltration and injury to sensory neurons and their supporting cells. **Experimental Neurology**, Minneapolis, v. 2003, p. 42-54, 2007.

PIERCE, D. R.; WILLIAMS, D. K.; LEIGHT, K. E. Purkinje cell vulnerability to developmental ethanol exposure in the rat cerebellum. **Alcoholism: clinical and experimental research**, Arkansas, V. 23, n. 10, october, 1999.

SERVAIS, L. et al. Purkinje cell dysfunction and alteration of long-term synaptic plasticity in fetal alcohol syndrome. **PNAS**. v. 104, n. 23, june, 2007.

SILVA, A. C.C. et al. Efeito da exposição ao etanol e da desnutrição sobre o córtex visual durante o desenvolvimento perinatal. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 6, n. 2, p. 166-174, mar./ago. 2007.

SILVA, B. P. F. et al. Efeitos da exposição perinatal à aguardente sobre o córtex cerebral de ratos. **Revista Paraense de Medicina**, Pernambuco, v.20, n. 1, jan./mar. 2006.

SILVESTRIN, B. R. O teste de motricidade sobre a grade como ferramenta de triagem no modelo de parkinsonismo induzido por 6-hidroxidopamina em ratos. **Instituto de Ciências Básica e Saúde**. Porto Alegre, outubro, 2008.

VIALLE, E. et al. Avaliação da recuperação motora em ratos submetidos à lesão medular experimental. **Revista Brasileira de Ortopedia**. Curitiba, v. 37 n. 3, março, 2002.

WALTON, K. D.; RIEBERMAN, D.; LLINÁS, A.; BEGIN, M.; LLINÁS, R. R. Identification of a critical period for motor development in neonatal rats. **Neuroscience**, v. 51, p. 763-767, 1992.

WONG, D. V. T. et al. Álcool e neurodesenvolvimento: aspectos genéticos e farmacológicos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Fortaleza, v. 5, n. 1, p. 16-31, 2008.

**ANEXO 1 Escala Motora Subjetiva (KUHN P. L. e WRATHALL J. R.;1998 apud VIALLE, E. et al., 2002)**

**A) Escala motora: teste de coordenação da função motora.**

- 0** – nenhum movimento com a pata traseira, não suporta o peso do corpo sobre a mesma;
- 1** – escassos movimentos percebidos na pata, não conseguem suportar o peso do corpo sobre a pata;
- 2** – freqüente e/ou vigoroso movimento em MMII, não suporta o peso;
- 3** – consegue suportar o peso sobre a pata traseira, podendo dar um ou dois passos;
- 4** – suporta todo o peso do corpo, consegue dar passos consistentes usando a porção distal da pata, flexão do quadril mantida;
- 5** – caminha com leve déficit;
- 6** – caminha movimentando normalmente todas as articulações da pata traseira.

**B) Extensão dos dedos: reflexo de extensão dos dedos da pata traseira quando o animal é levantado pelo rabo.**

- 0** – nenhuma extensão;
- 1** – mínima extensão, dedos flácidos;
- 2** – normal extensão dos dedos;
- 3** – hiperextensão com tremores dos dedos ou da pata.

**C) Retirada em extensão: reflexo de retirada da pata traseira contra o corpo quando esta é manualmente estendida.**

- 0** – sem flexão de retirada, pata traseira flácida;
- 1** – fraco ou lento movimento contra o corpo;
- 2** – retirada normal da pata traseira contra o corpo;
- 3** – hiperflexão da pata traseira com tremores da mesma.

**D) Retirada contra dor: reflexo de retirar a pata em direção ao corpo em resposta a um**

**estímulo aplicado na eminência hipotenar da pata.**

- 0** – nenhuma resposta da pata apertada;
- 1** – movimento abrupto da pata, mas sem retirar a pata traseira contra o corpo;
- 2** – normal, com rápida retirada da pata traseira contra o corpo;
- 3** – hiperflexão da pata traseira, com tremores da mesma.

**E) Resposta à ventralização: é o reflexo no qual o animal se endireita, voltando à sua posição habitual, quando colocado de costas numa superfície lisa.**

- 0** – animal continua na posição supina;
- 1** – lento retorno à posição prona, mais de 0,5 segundo;
- 2** – retorno médio à posição prona;
- 3** – retorno rápido à posição prona, em 0,5 segundo.

**F) Ato de agarrar a barra com a pata traseira: reflexo de percepção, em resposta ao contato da pata traseira com uma barra de pequeno diâmetro.**

- 0** – não responde ao toque da barra contra a pata;
- 1** – a pata traseira responde ao toque, mas não consegue agarrá-la;
- 2** – a pata traseira agarra com sucesso a barra, mas de modo fraco;
- 3** – a pata traseira agarra fortemente a barra e puxa-a contra seu corpo.



## ANEXO 2 Aprovação do Comitê de Ética



**FACULDADE DE PINDAMONHANGABA**  
Credenciada pela Portaria Ministerial nº 1855, de 26/06/2002 publicada no D. O. U. de 27/06/2002.

### DECLARAÇÃO

**Registro CEEA/FAPI nº 003/2009** (esse nº de registro deverá ser citado pelo pesquisador nas correspondências referentes a este projeto).

Projeto de Pesquisa: **Avaliação da função motora de ratos wistar submetidos à ingestão de álcool.**

Pesquisador(a) Responsável: **Prof. MSc. Felipe Fernandes Lemos**

O Comitê de Ética para Experimentação Animal, em reunião de 25/06/2009 e no uso das competências, considerou o Projeto acima **aprovado**.

Após nova avaliação do projeto nº003/2009 constatamos que os pesquisadores responsáveis mantiveram alguns testes contrários às orientações deste comitê. Decidimos aprová-lo, para que não haja prejuízo do TCC dos alunos, apesar das inadequações de delineamento experimental.

**Obs: Apresentar relatório final ao término da pesquisa.**

Pindamonhangaba, 25 de junho de 2009.

Prof. Dra Naira Correia Cusma Pelógia  
Coordenadora do Comitê de Ética para Experimentação Animal  
Fapi-Faculdade de Pindamonhangaba