
Índice

Abreviaturas	3
Resumo	5
Âmbito geral e objectivos do trabalho	7
PARTE I – COMPONENTE CIENTÍFICA	
Capítulo 1 – Introdução	11
1.1 – O álcool	12
1.1.1 – Metabolismo	13
1.1.2 – Farmacocinética	15
1.1.3 – Efeitos gerais no organismo	17
1.1.4 – O álcool como droga de abuso	21
1.2 – O álcool e a transmissão nervosa	24
1.2.1 – O impulso nervoso	24
1.2.2 – Transmissão sináptica	28
1.2.3 – Efeitos do álcool em receptores de neurotransmissores	31
1.3 – Funções afectadas pelo consumo de álcool	38
1.3.1 – Coordenação motora	38
1.3.2 – Memória e aprendizagem	43
1.3.3 – Compulsão e sistema de recompensa	49
1.4 – Adaptações do organismo aos efeitos do álcool: tolerância	52
Capítulo 2 – Métodos	55
2.1 – Animais	56
2.2 – Teste de ingestão voluntária de etanol	56
2.3 – Teste da roda motora	57
2.4 – Teste de reconhecimento de dois objectos no campo aberto	58
2.5 – Teste de preferência condicionada de local	63
2.6 – Análise estatística	66

Capítulo 3 – Resultados	67
3.1 – Ingestão voluntária de etanol	68
3.2 – Efeitos do consumo de etanol na coordenação motora	70
3.3 – Efeitos do consumo de etanol na memória a curto e a longo prazo	70
3.4 – Compulsão por etanol	74
Capítulo 4 – Discussão	77
4.1 – Ingestão voluntária de etanol	78
4.2 – Efeitos do consumo de etanol na coordenação motora	79
4.3 – Efeitos do consumo de etanol na memória a curto e a longo prazo	80
4.4 – Compulsão por etanol	82
Capítulo 5 – Conclusão	85
PARTE II – COMPONENTE PEDAGÓGICA	
Capítulo 6 – Importância das actividades propostas no ensino das ciências ao nível do 3º ciclo do Ensino Básico e Ensino Secundário	89
Capítulo 7 – Aplicação das actividades experimentais propostas nas actividades escolares	93
7.1 – A vantagem de utilizar modelos animais	94
7.2 – Ambiente e acomodação dos animais	95
7.2.1 – As gaiolas	95
7.2.2 – O ambiente físico	97
7.3 – Manuseamento dos animais	97
7.4 – Análise e discussão de resultados	100
Capítulo 8 – Protocolos Experimentais	101
Introdução Geral	102
Protocolo Experimental 1 – Efeitos do etanol na coordenação motora	104
Protocolo Experimental 2 – Efeitos do etanol na memória a curto e a longo prazo	109
Protocolo Experimental 3 – Viciação induzida pelo álcool	117
Bibliografia	125

ABREVIATURAS UTILIZADAS

BAC – Concentração de álcool no sangue (*Blood alcohol concentration*)

Cal – Caloria nutricional (1 Cal = 1.000 cal = 1kcal)

GABA – Ácido gama-aminobutírico (*Gamma-aminobutyric acid*)

IR – Índice de reconhecimento

ITI – Intervalo entre sessões de teste (*Intertrial intermission*)

kcal – Quilocaloria

LTD – Depressão de longa duração (*Long-term depression*)

LTP – Potenciação de longa duração (*Long-term potentiation*)

min – Minutos

mRNA – RNA (ácido ribonucleico) mensageiro

NAC – Núcleo Accumbens

NMDA – N-metil-D-aspartato

rpm – Rotações por minuto

seg – Segundos

SEM – Erro padrão da média

SNC – Sistema Nervoso Central

VTA – Área Tegmental Ventral

RESUMO

No presente trabalho estudou-se a possibilidade de utilizar técnicas simples para ensinar as consequências do consumo de álcool em alguns aspectos do funcionamento do sistema nervoso central dos mamíferos, bem como os mecanismos envolvidos. O trabalho encontra-se estruturado em duas partes: Parte I – Componente Científica, e Parte II – Componente Pedagógica.

Na primeira parte estabeleceram-se condições experimentais para demonstrar os efeitos do consumo de álcool na coordenação motora, na memória e o desenvolvimento de compulsão pelo álcool. Em experiências que demonstram o efeito do consumo voluntário de etanol facultou-se aos animais o acesso simultâneo a soluções de etanol e solução-base de sacarina e verificou-se que os animais, apesar do sabor aversivo, preferiram as soluções de etanol ao fim de algum tempo. Para avaliar o efeito do etanol na coordenação motora utilizou-se o teste da roda motora, onde se verificou que o grupo de animais sujeito a um consumo crónico de etanol manifestou sempre um desempenho inferior ao grupo de animais de controlo. Estudou-se também a influência do etanol na memória a curto e a longo prazo, através do teste de reconhecimento de dois objectos no campo aberto. Os animais controlo mostraram um valor de índice de reconhecimento do objecto superior ao dos animais sujeitos a consumo crónico de etanol, quer no teste para a memória a curto prazo, quer no teste para a memória a longo prazo. Realizou-se ainda um teste de preferência condicionada de local para avaliar a capacidade de viciação do álcool. Verificou-se que os animais tinham tendência a permanecer mais tempo no compartimento da gaiola em que tinham tido acesso ao álcool, em comparação com o compartimento em que só tinham a acesso a água na fase de condicionamento.

Com base nestas experiências foram elaborados alguns protocolos para um conjunto de actividades experimentais simples, que integram a Parte II deste trabalho. Para cada uma das actividades propostas é sugerida uma possível forma de abordagem, bem como a sua possibilidade de integração nos conteúdos programáticos de algumas disciplinas do terceiro ciclo do ensino básico e do ensino secundário.

ÂMBITO GERAL E OBJECTIVOS DO TRABALHO

O consumo de álcool é um problema cada vez mais preocupante na nossa sociedade. De fácil acesso e com uma componente social muito forte, começa-se a consumir este tipo de bebidas cada vez mais cedo. Nas camadas mais jovens este consumo é feito muitas vezes de forma marginal, sem regras e como uma forma de auto-promoção entre os elementos do grupo. Torna-se, por isso, cada vez mais importante sensibilizar a comunidade escolar para esta problemática, sobretudo para os efeitos nocivos que o consumo de álcool pode trazer ao organismo. Além disso, o tema dos efeitos do álcool permite ensinar, num contexto motivador, vários aspectos de transmissão nervosa ao nível da sinapse e os mecanismos de controlo do movimento e da memória.

As actividades experimentais propostas neste trabalho têm como finalidade constituir um instrumento passível de ser utilizado por professores de Ciências ou de Biologia, seja em clubes específicos (inseridos, por exemplo em projectos de educação para a saúde, clubes de ciências, etc.), seja em contexto de sala de aula (em área projecto, por exemplo).

Para além do carácter sensibilizador das actividades propostas, elas podem também contribuir para a exploração de conteúdos curriculares leccionados em contexto de sala de aula de uma forma mais motivadora para os alunos. Pretende-se que estes possam desenvolver competências no âmbito do trabalho científico, manipulação de material de laboratório, trabalho de grupo e raciocínio científico. Este é, aliás, um dos pontos-chave dos novos programas implementados no ensino básico e secundário. De acordo com as orientações do Ministério da Educação, é importante desenvolver nos nossos jovens uma literacia científica cada vez melhor sustentada. Quanto maiores forem os seus conhecimentos científicos, maior será a sua preparação para tomar decisões conscientes e fundamentadas no que respeita às implicações sociais da ciência.

Na primeira parte deste trabalho fornece-se informação científica sobre o funcionamento da célula nervosa, a transmissão nervosa e os mecanismos de acção do etanol para auxílio dos professores responsáveis pela posterior aplicação das actividades em meio escolar. Procurou-se sempre propor materiais de fácil obtenção, pois nem todas as escolas possuem capacidade para adquirir os aparelhos mais adequados à realização de testes de comportamento.

A segunda parte deste trabalho tem como finalidade apresentar uma série de materiais auxiliares ligados mais directamente à aplicação em sala de aula das actividades experimentais. Entre eles encontra-se um conjunto de protocolos que podem ser fotocopiados e entregues aos alunos. Por isso mesmo, a numeração das figuras é reiniciada nesta secção. Apresentam-se ainda sugestões de abordagem dos assuntos e tópicos de discussão de resultados, bem como algumas indicações relativas a cuidados a ter na realização das experiências e na forma de manuseamento dos animais de laboratório.

PARTE I – COMPONENTE CIENTÍFICA

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1 – O álcool

O processo de produção de bebidas alcoólicas é algo que data de tempos pré-históricos, tendo tido origem, provavelmente, na fermentação acidental de mel, cereais ou sumos de frutas. O fabrico destas bebidas já era, inclusivamente, bastante desenvolvido no Antigo Egipto, embora tenham sido os Árabes, por volta de 800 d.C. quem aperfeiçoou o método de destilação para obter concentrações de álcool superiores. O próprio termo *álcool* tem origem na palavra árabe *alkuhl* ou *al-koh'l* (que significa “coisa subtil”). A utilização deste tipo de bebidas espalhou-se depois um pouco por todo o mundo e o seu sucesso ter-se-á devido aos efeitos que provoca nos indivíduos, nomeadamente as sensações de euforia (inicial) e as suas propriedades como anseolítico e sedativo. É do senso comum que o álcool, quando consumido com moderação, desinibe, induz relaxamento, melhoria de disposição e aumenta o apetite. Além disso, actualmente as bebidas alcoólicas desempenham também um papel social importante, uma vez que se encontram associadas a eventos de reunião de pessoas, tais como bares, discotecas, banquetes, festas, etc. Por tudo isto, só muito recentemente o alcoolismo foi reconhecido como um problema social e o álcool como uma droga (que pode ser) de abuso.

Os álcoois, de um modo geral, são moléculas orgânicas que possuem um grupo hidroxilo característico ($-OH$) e podem apresentar-se sob diversas formas, sendo a sua aplicação também muito diversa. Contudo, neste trabalho, ao referirmos o termo álcool estaremos a designar o álcool etílico (figura 1), uma vez que é essa a forma presente nas bebidas alcoólicas.

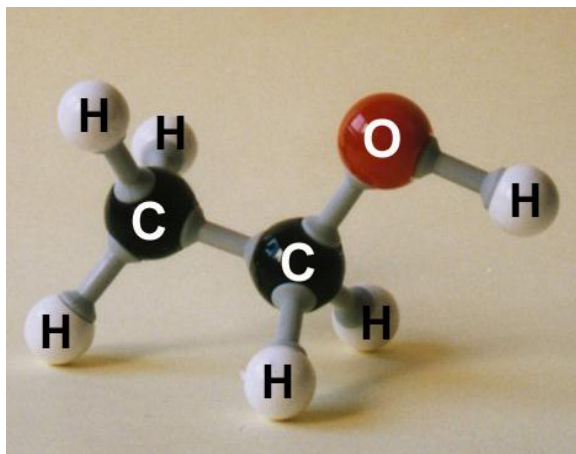


Figura 1 – Modelo tridimensional de uma molécula de etanol. (Imagem retirada da internet).

1.1.1 – Metabolismo

Da totalidade do álcool ingerido, nem todo é absorvido para a corrente sanguínea pois no estômago existe a enzima álcool desidrogenase que pode degradar 10-15% do álcool ingerido. Cerca de 5% do álcool absorvido para a corrente sanguínea é excretado inalterado através dos pulmões, sendo detectado na respiração. É neste facto que se baseia o teste de alcoolemia realizado pela polícia responsável pela segurança rodoviária. Os restantes 95% do álcool absorvido são, em última análise, metabolizados em CO_2 e água, e eliminados posteriormente através da respiração, urina e outros processos de excreção. O processo passa-se maioritariamente no fígado. Em média, um indivíduo adulto metaboliza 10ml de etanol por hora, independentemente da concentração de álcool no sangue (BAC) (Julien, 2005). Deste modo, até ser totalmente degradado, o álcool ingerido mantém-se na circulação sanguínea e ao chegar ao cérebro produz os seus efeitos nefastos. Por isso, os efeitos do álcool são descritos em função da BAC em vez da quantidade ingerida. Quanto mais tempo passar na circulação sanguínea, mais intensos serão os efeitos provocados pelo álcool no organismo.

Embora no fígado existam várias enzimas capazes de oxidar o álcool, a sua degradação metabólica é devida principalmente à actividade de duas enzimas: a álcool desidrogenase e a acetaldeído desidrogenase. Numa primeira fase, a enzima álcool desidrogenase converte o álcool em acetaldeído, um composto muito reactivo e altamente tóxico. Contudo, a sua concentração no organismo é normalmente insignificante, uma vez que é rapidamente transformado pela aldeído desidrogenase em ácido acético. Este passa para a corrente sanguínea e pode ser captado pelas células onde se combina com coenzima A dando origem a acetil-coenzima A que entra posteriormente no ciclo do ácido cítrico, onde é finalmente oxidada, formando-se CO_2 (eliminado na respiração), H_2O (eliminada na urina) e energia (figura 2). Apesar do álcool não ter qualquer valor nutritivo, cada grama de etanol metabolizado fornece ao organismo cerca de 7 Cal (Feldman, 1997).

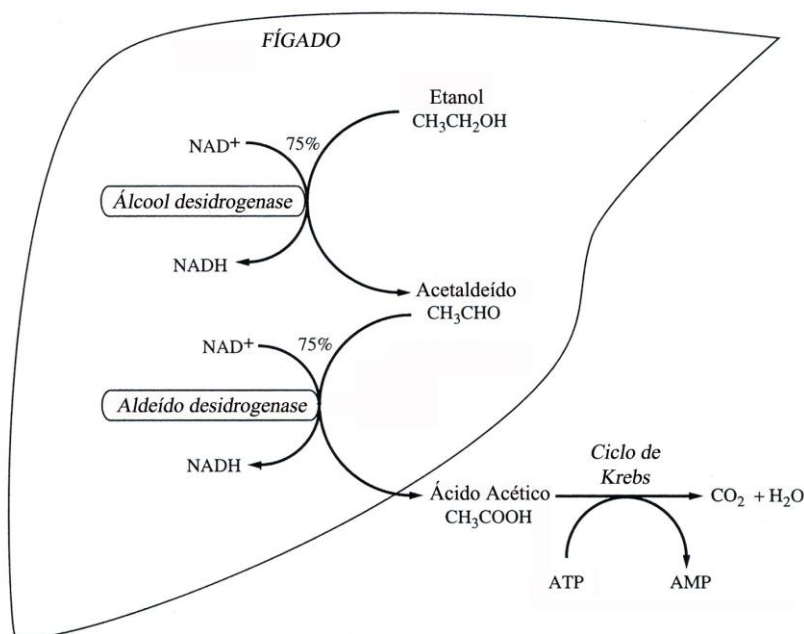


Figura 2 – Metabolismo do etanol. (Adaptado de Julien, 2005).

O metabolismo do álcool tem uma particularidade que o distingue do que se passa com outras drogas, uma vez que ocorre a uma taxa constante, independente da concentração de etanol disponível no sangue. No entanto, esta taxa pode variar de indivíduo para indivíduo pois é condicionada por uma série de factores tais como: características genéticas, de etnia ou sexo dos indivíduos, ou adaptações fisiológicas em indivíduos que desenvolvem tolerância ao álcool, como se abordará na secção seguinte mais em pormenor.

1.1.2 – Farmacocinética

O álcool, tal como qualquer outra droga, segue um caminho específico dentro do organismo humano. Qualquer droga, a partir do momento em que é introduzida no organismo passa depois para a corrente sanguínea, através da qual chega ao SNC, onde desencadeará um conjunto específico de reacções que se irão depois reflectir numa resposta sintomática no organismo da alteração induzida pela droga (Meyer e Quenzer, 2005; Purves, 2008). É de recordar que o tipo de efeitos que provoca está dependente de uma série de factores, tais como a concentração ingerida e o tempo de consumo.

O álcool etílico é consumido normalmente por via oral e absorvido através do tracto gastrointestinal, sendo que 10% do volume ingerido é absorvido pelo estômago e 90% pelo intestino delgado quando o conteúdo do estômago é esvaziado para o duodeno. Como é uma molécula de pequenas dimensões, a passagem através das membranas celulares e dos capilares é feita por difusão simples do tracto gastrointestinal (onde se encontra em maior concentração) para os capilares sanguíneos (onde a sua concentração é menor). As suas dimensões reduzidas permitem que as moléculas se difundam rapidamente por todo o corpo através da corrente sanguínea até ao SNC (Meyer e Quenzer, 2005).

Contudo, a sua taxa de absorção e distribuição é afectada por uma série de factores, nomeadamente:

- **Quantidade de álcool ingerida**

A taxa de absorção é mais rápida quando a bebida ingerida contém entre 15% a 30% de álcool, sendo que para concentrações inferiores a 10% e superiores a 30% a absorção é mais lenta. Concentrações mais elevadas inibem o peristaltismo gástrico e induzem espasmos do piloro, demorando o esvaziamento do estômago, pelo que atrasam também a absorção do álcool.

- **Propriedades específicas das bebidas**

Dependendo das suas características específicas, como por exemplo o seu conteúdo em etanol, algumas bebidas demoram mais tempo a ser absorvidas que outras. É o caso do brandy e do whisky, cuja absorção é mais rápida que a cerveja.

- **Conteúdo do estômago**

A presença de alimento atrasa a difusão do álcool (uma vez que o álcool é obrigado a acompanhar a comida através do piloro). Este efeito é mais pronunciado quando os alimentos são mais ricos em hidratos de carbono e proteínas do que quando existe uma maior quantidade de gorduras.

- **Tamanho corporal / Género**

Nos homens, para a mesma quantidade de álcool ingerida, os efeitos do álcool são menos pronunciados que nas mulheres, uma vez que os homens contêm, à proporção, menor quantidade de etanol no sangue. Isto acontece porque os homens tendem a ter um tamanho corporal superior ao das mulheres, para além do facto de terem uma maior razão músculo/gordura. Assim, os homens possuem uma maior capacidade vascular, não só pelo seu tamanho, mas também porque a gordura não é vascularizada, o que faz com que o álcool

ingerido se encontre mais diluído no sangue. Além disso, a enzima álcool desidrogenase presente no tubo gástrico das mulheres é cerca de 60% menos activa que nos homens. Deste modo, o metabolismo do álcool é mais lento nas mulheres que nos homens, permanecendo o álcool mais tempo na circulação sanguínea.

- **Diferenças genéticas**

Alguns indivíduos apresentam diferenças genéticas que influenciam o metabolismo do etanol. Embora estas diferenças possam ser individuais, elas são notórias sobretudo quando são próprias de etnias específicas. Por exemplo, 10% dos indivíduos asiáticos apresentam genes que codificam uma forma inactiva da enzima álcool desidrogenase, levando a uma acumulação de acetaldeído no organismo. Estes níveis elevados provocam náuseas, vômito, taquicardia, transpiração intensa, tonturas e confusão. Ainda na população asiática, outros 40% codificam uma forma activa e outra inactiva da enzima, o que também reduz o metabolismo do etanol.

- **Medicação**

Alguns medicamentos dificultam o metabolismo do álcool. Por exemplo, o ácido acetilsalicílico inibe a actividade da álcool desidrogenase, e outros medicamentos de protecção gástrica também dificultam a degradação do álcool, bem como a sua absorção para a corrente sanguínea.

1.1.3 – Efeitos gerais do álcool no organismo

De um modo geral, os sintomas provocados pelo consumo de álcool são o reflexo dos seus efeitos ao nível do sistema nervoso. Tal como acontece com outros depressores do SNC, em baixas dosagens, o álcool induz nos indivíduos um estado de relaxamento e redução da ansiedade. Em ambientes calmos, o relaxamento pode traduzir-se em sonolência, embora em

condições de maior estímulo social se verifique uma maior tendência para a realização de actividades gregárias, reduzida inibição social, pelo que os indivíduos tendem a falar mais e de forma mais descontraída e confiante, podendo mesmo vir a ser inconvenientes, pois a sua auto-percepção é também alterada (Meyer e Quenzer, 2005).

Ao nível do SNC, os efeitos do etanol também se fazem sentir na memória. Em doses relativamente baixas, verifica-se um decréscimo da capacidade de memória, pois estando o indivíduo mais relaxado, também tem maiores dificuldades de concentração. Contudo, em condições de grande *stress*, verifica-se o efeito contrário, podendo mesmo o desempenho vir a ser superior, uma vez que as propriedades do etanol como depressor do SNC reduzem os efeitos negativos da ansiedade característica destas situações. Quando a BAC é muito elevada, verifica-se uma amnésia dos acontecimentos ocorridos no período de intoxicação. Verifica-se ainda, pelo facto da actividade do SNC estar deprimida, uma também reduzida capacidade de coordenação motora, dificuldade em realizar tarefas que envolvam motricidade fina, e demorado tempo de reacção, bem como dificuldade de raciocínio. À medida que a dose de álcool ingerida aumenta, o mesmo acontece com o grau de sedação do indivíduo, provocando sono. Em concentrações mais elevadas, o álcool suprime o período de sono REM (*rapid eye movement* – movimento rápido dos olhos) característico dos períodos de sonho. Quando os níveis de etanol em circulação atingem níveis muito elevados, o indivíduo pode perder a consciência, entrar em coma e em última análise perder a vida, devido à inibição do sistema de controlo da respiração ao nível do SNC. A tabela I resume os efeitos descritos em função do aumento da BAC.

Fora do SNC, o consumo de álcool interfere com uma série de outros sistemas. No sistema cardiovascular, por exemplo, o álcool induz dilatação dos vasos sanguíneos periféricos, o que faz com que quem bebe fique com aspecto corado. Em doses reduzidas, este efeito pode ser benéfico, reduzindo a possibilidade de formação de coágulos. Contudo, quando o consumo é elevado, o aumento da pressão sanguínea é muito grande e aumenta o risco de AVC.

Tabela I – Efeitos do etanol no comportamento consoante a concentração no sangue expressa em percentagem (BAC, *blood alcohol concentration*) (Adaptado de Meyer e Quenzer, 2005).

BAC	Efeitos no comportamento
0.02 – 0.03	Efeitos mínimos. Ligeiro relaxamento, melhoria de humor.
0.05 – 0.06	Diminuição do estado de alerta; redução das inibições; ligeira dificuldade de discernimento.
0.08 – 0.10	Redução na capacidade de coordenação motora; maior lentidão nos reflexos; aumento do tempo de reacção.
0.14 – 0.16	Perda significativa do controlo mental e motor; discurso atabalhado; emoções exacerbadas; visão turva; grande lentidão nos reflexos.
0.20 – 0.25	Atordoamento; incapacidade de andar sem ajuda; emoções exacerbadas sem motivo significativo; confusão mental; visão dupla.
0.30	Consciente, mas em estado de letargia, sem percepção do ambiente circundante.
0.45	Coma; concentração letal para 50% da população.

Ao nível do tracto gastrointestinal, o álcool estimula a produção de saliva e suco gástrico, o que com o consumo crónico resulta em inflamações no estômago e no esófago. Mas é sobretudo no fígado que os efeitos do consumo prolongado de álcool no tracto gastrointestinal se fazem sentir. Um dos efeitos é o “fígado gordo”, provocado por uma acumulação de gorduras. Quando o etanol está presente, é metabolizado em detrimento das gorduras, que são armazenadas em vez de metabolizadas. Quando o consumo de álcool é muito elevado, a acumulação de acetaldeído resultante do metabolismo do etanol leva à morte de células do fígado, causando a hepatite alcoólica. À medida que esta condição se agrava, forma-se tecido cicatricial, característico da cirrose alcoólica. Nesta situação, à medida que as cicatrizes se desenvolvem, a circulação sanguínea é interrompida nos tecidos lesados e a redução do fornecimento de oxigénio acentua a morte celular. À medida que a cirrose

avança, a função hepática vai sendo progressivamente reduzida. A figura 3 mostra o aspecto de um fígado normal e de fígados afectados pelo etanol.



Figura 3 – Danos provocados pelo consumo prolongado de álcool no fígado. Esquerda: fígado normal, centro: fígado “gordo”, direita: fígado cirrótico. (Extraído de Meyer e Quenzer, 2005).

Com o consumo prolongado de etanol em grandes quantidades, ocorrem também danos cerebrais. A morte neuronal pode ocorrer devido a um grande conjunto de factores, tais como níveis muito elevados de acetaldeído, deficiência hepática e uma alimentação desequilibrada. Devido à má nutrição, com o tempo instala-se uma deficiência nos níveis de alguns nutrientes, particularmente vitaminas. A vitamina B1 é fundamental para o metabolismo cerebral da glicose. Níveis reduzidos desta vitamina levam à redução da massa encefálica do alcoólico (figura 4), bem como o comprometimento das funções cerebrais exercidas pelas áreas afectadas. Na secção 1.3. será discutida mais em pormenor a forma como o álcool interfere no SNC.

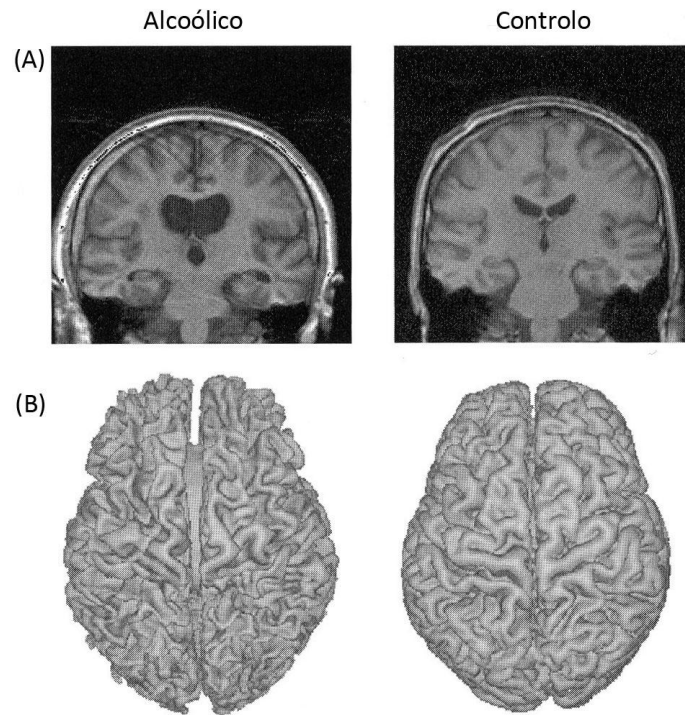


Figura 4 – Danos cerebrais provocados pelo consumo de álcool. A – Imagens do cérebro de um indivíduo alcoólico e de um indivíduo não alcoólico obtidas por ressonância magnética nuclear. O aumento do tamanho dos ventrículos no indivíduo alcoólico indica redução da massa encefálica. B – Vista exterior dos encéfalos representados em A. No indivíduo alcoólico, os sulcos são maiores, indicando perda significativa do volume de tecido. (Adaptado de Meyer e Quenzer, 2005).

1.1.4 – O álcool como droga de abuso

Este é um assunto que nem sempre foi pacífico. Sendo uma bebida com um carácter social, nem sempre foi visto como uma droga e só recentemente foi assumido como um problema grave com o qual a sociedade tem de lidar. Apesar do álcool não produzir efeitos nocivos para a saúde ou induzir viciação quando consumido em pequenas quantidades, o seu consumo em excesso produz tolerância, dependência física e compulsão (viciação), tal como qualquer outra droga de abuso. Os seus efeitos incluem alterações no sistema de recompensa (responsáveis pela compulsão), redução da capacidade de memória e de coordenação, ou até mesmo sintomas fisiológicos graves, que podem culminar na morte do indivíduo.

As drogas podem produzir no organismo uma multiplicidade de efeitos. Como tal, a sua classificação é muito complexa e, por isso mesmo, feita de acordo com a área de interesse dos estudos. Deste modo, a classificação de uma droga pode ser feita de acordo com a sua estrutura química, uso médico, estatuto legal, efeitos neurológicos ou comportamentais ou ainda consoante o seu potencial de abuso. Neste trabalho, optaremos por um sistema de classificação baseado nos efeitos das drogas sobre o sistema nervoso central (Tabela II). É de referir, contudo, que os efeitos descritos são apenas gerais, pois dependem grandemente da dosagem em que a droga é consumida. Além disso, algumas drogas produzem uma variedade de efeitos, o que torna difícil a sua classificação.

Tabela II – Classificação das drogas (Adaptado de Meyer e Quenzer, 2005)

<i>Categoria das drogas</i>	<i>Efeitos no SNC</i>	<i>Exemplos</i>
Estimulantes do SNC	Aumentam a actividade eléctrica cerebral, aumentando os níveis de atenção e alerta e provocando uma sensação de bem-estar no indivíduo.	Anfetaminas Cocaína Cafeína Nicotina
Depressores do SNC	Reduzem a actividade do SNC, induzindo no indivíduo uma sensação de relaxamento, diminuição da ansiedade e sonolência. Em maiores dosagens podem provocar perda de coordenação, de consciência ou mesmo coma.	Barbitúricos Álcool
Analgésicos	As suas propriedades são semelhantes às dos depressores do SNC, embora o seu principal efeito seja a redução da percepção da dor. Em alguns casos, como é o dos opiáceos, para além do efeito analgésico, também é induzido o relaxamento e sono, ou mesmo sensação de euforia.	Morfina Heroína Codeína
Alucinogéneos	Os alucinogéneos têm como principal efeito a alteração da percepção da realidade, induzindo ilusões visuais ou distorções da imagem corporal ou dos objectos.	Mescalina LSD
Psicoterapêuticos	São fármacos psicoactivos usados clinicamente para reduzir os sintomas de distúrbios de comportamento, como a esquizofrenia ou a depressão.	Prozac Torazina

O álcool inclui-se na categoria de depressores do SNC, o que faz com que os seus efeitos se manifestem em sintomas como desinibição, redução da resposta sensorial, actividade física e função cognitiva, sonolência, e à medida que a dosagem aumenta surge a inconsciência, podendo mesmo culminar no coma ou morte do indivíduo. No caso específico do álcool, não se pode determinar a partir de que momento específico começa a ter efeitos nocivos para o organismo, pois varia de indivíduo para indivíduo, como já foi falado. Inclusivamente, não existem evidências de que baixas concentrações produzam efeitos nocivos, podendo mesmo ter alguns efeitos benéficos em algumas pessoas (Meyer e Quenzer, 2005). Contudo, o consumo excessivo pode ter consequências muito graves nos indivíduos, podendo mesmo vir a provocar a sua morte por intoxicação severa.

A dependência física relativamente ao etanol é comprovada pelo aparecimento de sintomas de abstinência (físicos) quando o consumo é terminado. Alguns autores consideram mesmo os sintomas de “ressaca” após um consumo excessivo de álcool como uma evidência dos sintomas de privação de álcool, enquanto outros os atribuem à presença de acetaldeído e outros compostos secundários resultantes do processo fermentativo e destilatório em excesso no organismo, como sinal de toxicidade (Meyer e Quenzer, 2005). Contudo, quando o consumo de álcool é interrompido, sobretudo após um longo período de consumo excessivo e continuado, os sintomas físicos de abstinência tornam-se mais intensos e severos. Entre eles incluem-se tremor, ansiedade intensa (com ataques de pânico), elevada pressão arterial associada a um rápido ritmo cardíaco, respiração acelerada, transpiração excessiva, distúrbios de sono, náuseas e vômitos, podendo mesmo alguns indivíduos, em casos mais extremos, manifestar *delirium tremens*. Esta é uma designação atribuída a um conjunto característico de sintomas físicos, nomeadamente: irritabilidade, dores de cabeça, agitação e confusão. Podem ainda ocorrer convulsões, alucinações (normalmente assustadoras e convincentes para os indivíduos, tipicamente associadas a animais repugnantes que rastejam pelo ou em direcção ao seu corpo), desorientação total e delírio. De todos estes efeitos, embora a maioria ocorra

de uma forma temporária (embora isso possa acontecer de uma forma repetida), alguns fazem-se sentir de uma forma mais prolongada, podendo mesmo durar semanas, como é o caso de sintomas como a pressão sanguínea instável, depressão e/ou ansiedade, ou distúrbios do sono. Por tudo isto, e tendo em conta que alguns sintomas de privação podem colocar em risco a vida dos indivíduos, o processo de desintoxicação de um alcoólico pode ser muito complicado, pelo que deve ser sempre feito com um intenso acompanhamento médico.

Os aspectos relativos à compulsão induzida pelo consumo de etanol serão discutidos posteriormente na secção 1.3.3.

1.2 – O álcool e a transmissão nervosa

O que torna o álcool tão significativo em termos de efeitos nocivos é que, tal como qualquer outra droga de abuso, interfere com o sistema nervoso. Dele depende a nossa capacidade de percepção e reacção ao mundo que nos rodeia assegurando-se deste modo a nossa sobrevivência

O etanol interfere com a comunicação nervosa entre neurónios, ao nível da sinapse, actuando sobre receptores de neurotransmissores específicos, nomeadamente GABA (ácido gama-aminobutírico) e glutamato.

1.2.1 – O impulso nervoso

Para se perceber melhor o efeito do etanol, é importante saber a forma como o impulso nervoso é gerado e transmitido. Aquilo a que de um modo geral se chama impulso nervoso resulta duma inversão transitória no potencial eléctrico de membrana dos neurónios e da sua propagação ao longo do axónio.

Quando o neurónio está em repouso, na ausência de qualquer estímulo, o interior da membrana apresenta excesso de cargas negativas e o exterior apresenta excesso de cargas positivas (figura 5).

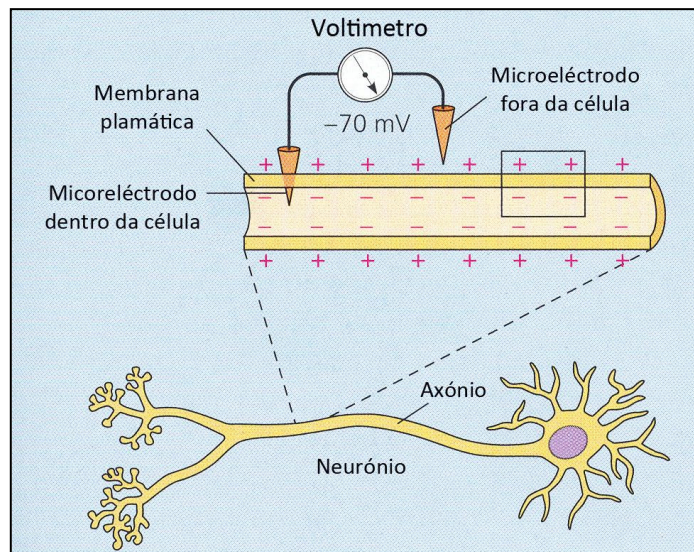


Figura 5 – Potencial de repouso de um neurónio. Sem estar sujeito a nenhum tipo de estímulo, o interior de um neurónio apresenta uma carga negativa e o exterior positiva. O seu potencial de repouso, que pode ser medido com microelectrodos, é de -70mV. (Adaptado de Campbel e Reece, 2008).

O potencial de repouso deve-se, principalmente, à diferença de concentração de iões Na^+ e K^+ dentro e fora da célula e à permeabilidade selectiva da membrana plasmática a K^+ . O fluido intersticial que rodeia os neurónios apresenta elevadas concentrações de Na^+ e Cl^- , mas baixa concentração de K^+ quando comparado com o meio intracelular. Existem ainda outras moléculas carregadas negativamente que não atravessam a membrana celular, a superfície interna da membrana apresenta um excesso de cargas eléctrica negativas, enquanto que a face externa apresenta um excesso de cargas eléctricas positivas. Devido aos gradientes de concentração, o ião K^+ tem tendência para sair da célula, enquanto que o ião Na^+ tem tendência a entrar. Contudo, como a permeabilidade da membrana ao ião K^+ é muito superior à permeabilidade ao ião Na^+ , a saída de K^+ é muito superior à entrada de Na^+ o que gera o potencial eléctrico negativo da célula. A bomba de Na/K é uma ATPase, que bombeia três iões Na^+ para o exterior por cada dois iões K^+ que transporta para o interior, evita a dissipação dos gradientes iónicos e ajuda a manter o potencial eléctrico negativo da membrana (figura 6).

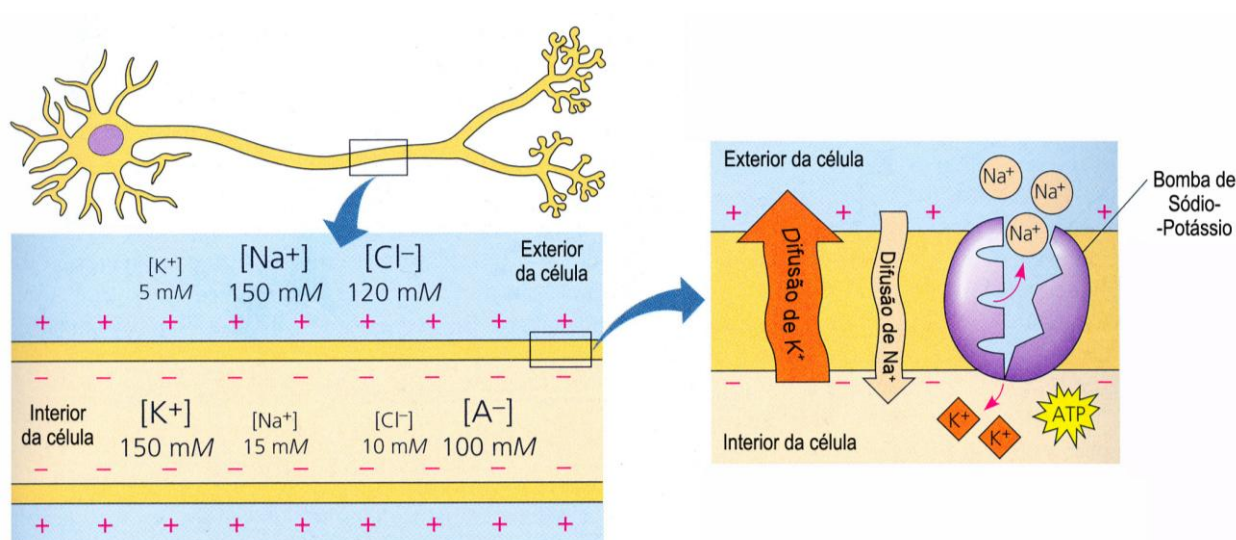


Figura 6 – Manutenção do potencial de repouso de um neurónio. A diferença de permeabilidade da membrana aos iões K⁺ e Na⁺ contribui para gerar o potencial negativo, juntamente com a bomba de Na/K, que ao mesmo tempo permite a manutenção dos gradientes iónicos entre o exterior e interior das células. (Adaptado de Campbell e Reece, 2008).

Na membrana do axónio existem também canais sensíveis ao potencial da membrana permeáveis a Na⁺ ou a K⁺. Quando o neurónio está em repouso, estes canais encontram-se fechados. Contudo, quando a célula é estimulada, a abertura de canais sensíveis aos estímulos permite uma ligeira despolarização da membrana que, se atingir um valor limiar, activa os canais sensíveis à voltagem. Primeiro abrem os canais de Na⁺, e o rápido influxo destes iões torna o interior da célula positivo (fase de despolarização). Seguidamente estes canais inactivam e abrem os canais de K⁺, permitindo a saída deste ião da célula a favor do gradiente, o que faz com que o interior da membrana volte a ficar negativo (fase de repolarização). Como o fecho dos canais de K⁺ é lento, a saída destes iões faz com que o interior da célula fique mais negativo do que no estado de repouso (fase de hiperpolarização). Quando os canais de K⁺ fecham, a célula volta ao estado de repouso (figura 7).

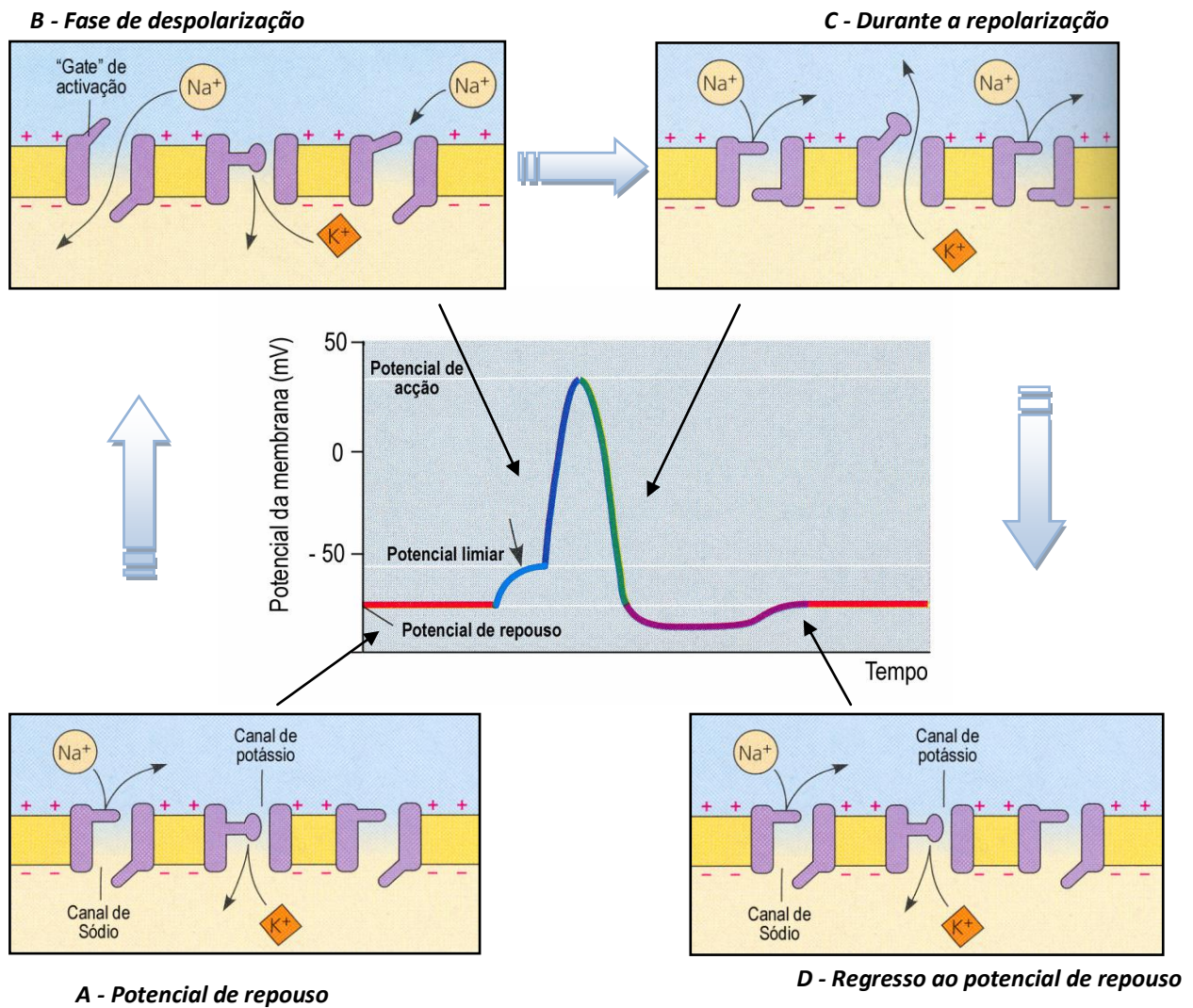


Figura 7 – Geração de um potencial de acção. Quando a célula é estimulada abrem-se canais de Na⁺ que permitem a despolarização da membrana. Os canais de K⁺ abrem quando os canais de Na⁺ inactivam, o que permite a repolarização da membrana. Quando estes canais voltam a fechar-se, atinge-se de novo o potencial de repouso (Adaptado de Campbell e Reece, 2008).

O impulso nervoso deve-se à regeneração do potencial de acção ao longo do axónio do neurónio. A despolarização da membrana num determinado local induz a abertura dos canais iónicos que lhes estão mais próximos. Devido ao fenómeno de hiperpolarização que torna a membrana refractária, apenas abrem os canais que ainda não foram estimulados, o que contribui para que o impulso nervoso se propague apenas num sentido (figura 8).

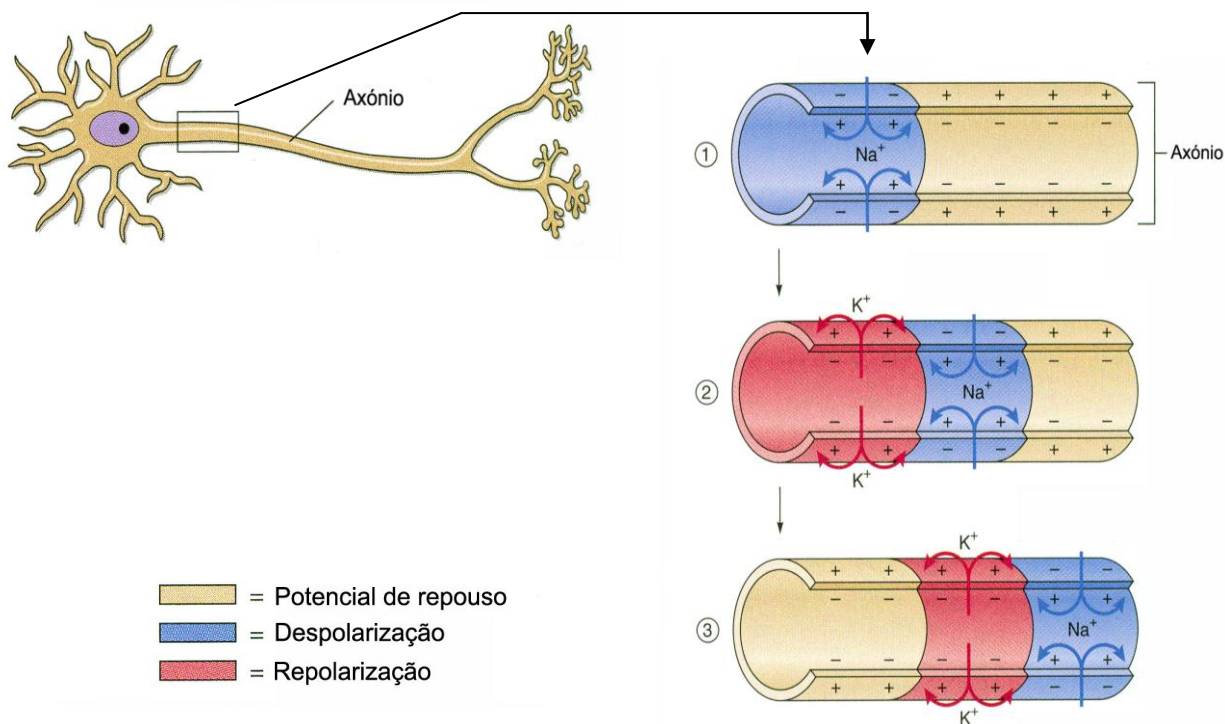


Figura 8 – Propagação do potencial de acção ao longo do neurónio. A entrada de iões Na^+ e consequente despolarização estimula a abertura dos canais iónicos adjacentes. O impulso só se regenera num sentido pois a hiperpolarização na zona onde o impulso foi primeiramente gerado não permite que se atinja o potencial limiar. (Adaptado de Fox, 2008).

1.2.2 – Transmissão Sináptica

Uma vez chegado ao terminal sináptico na extremidade do axónio, o impulso nervoso tem de ser transmitido ao neurónio seguinte. À estrutura ao nível da qual se dá a transmissão do impulso nervoso entre neurónios dá-se o nome de sinapse. Existem dois tipos de sinapse: a sinapse eléctrica e a sinapse química.

Numa sinapse eléctrica, as membranas dos neurónios pré- e pós-sináptico encontram-se separadas por um espaço de apenas dois nanómetros. Contudo existem estruturas membranares: *gap junctions* (ou junções de hiato), proteínas transmembranares que formam no seu conjunto estruturas hexagonais que constituem poros e permitem a comunicação directa entre o citoplasma dos dois (figura 9A). Assim sendo, os iões sódio passam directamente de um neurónio para outro, induzindo a despolarização necessária à regeneração do impulso nervoso (Fox, 2008). Esta passagem directa permite que o impulso

viaje rapidamente, sem atrasos nem perda de intensidade, embora a sua direcção de propagação possa ser em qualquer sentido (isto é, o estímulo de qualquer neurónio pode resultar na despolarização do outro). As sinapses eléctricas possuem algumas limitações na integração, entre outras coisas, devido ao facto de não permitirem soma temporal dos estímulos sinápticos, que é uma das formas de o sistema nervoso efectuar a integração da informação nervosa (Sadava *et al.*, 2010). Além disso, requerem uma elevada área de contacto entre as células pré e pós sináptica, pelo que um neurónio não pode estabelecer sinapses com milhares de outros neurónios, como é característico de um sistema nervoso complexo. Assim, este tipo de sinapse, embora comum no sistema nervoso de alguns animais invertebrados, não existe em abundância no sistema nervoso dos animais vertebrados. Nestes últimos, as sinapses eléctricas apenas sincronizam a actividade de alguns neurónios responsáveis por movimentos rápidos e repetitivos (permitem, por exemplo, em alguns peixes, movimentar as barbatanas muito rapidamente para fugir a predadores), sendo as sinapses químicas muito mais comuns (Campbel e Reece, 2008).

As sinapses químicas recebem esta designação pelo facto de envolverem a intervenção de mediadores químicos específicos – os neurotransmissores. Neste tipo de sinapse, não existe continuidade física entre os neurónios adjacentes, que se encontram separados por um espaço designado fenda sináptica (figura 9B).

As sinapses podem ser excitatórias ou inibitórias. Uma sinapse é excitatória se a ligação do neurotransmissor ao receptor na membrana pós-sináptica tem como consequência a despolarização do neurónio seguinte. São as pequenas despolarizações geradas pela abertura dos canais dos receptores dos neurotransmissores que, por somação, levam a membrana até ao potencial limiar, induzem a activação dos canais sensíveis a voltagem existentes no axónio, gerando o potencial de acção e início do impulso nervoso.

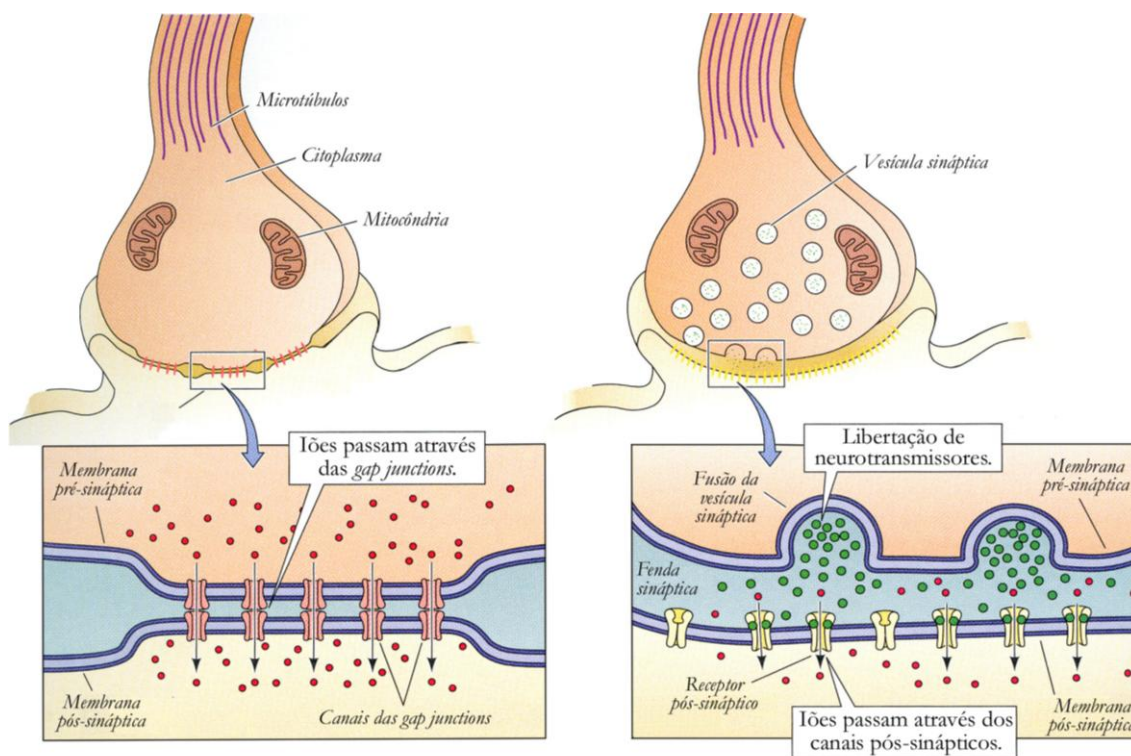


Figura 9 - Esquema representativo de uma sinapse eléctrica (A) e de uma sinapse química (B). Numa sinapse eléctrica os íons sódio passam directamente através de gap junctions para o neurónio seguinte, enquanto que uma sinapse química necessita da intervenção de mediadores químicos: os neurotransmissores. (Adaptado de Purves, *et al.*, 2008)

Contudo, alguns neurotransmissores têm efeitos opostos, provocando a abertura de canais de íons K^+ ou Cl^- , ou então induzindo o fecho de canais de Na^+ , o que tem como resultado uma hiperpolarização do neurónio pós-sináptico, reduzindo as hipóteses de regeneração do potencial de acção. Este tipo de sinapse é chamado inibitório. Contudo, não são apenas os neurotransmissores que determinam o tipo de sinapse.

Dependendo do tipo de receptores ou do tipo de canais de cada neurónio, um mesmo neurotransmissor pode ter um papel excitatório em algumas sinapses e inibitório noutras.

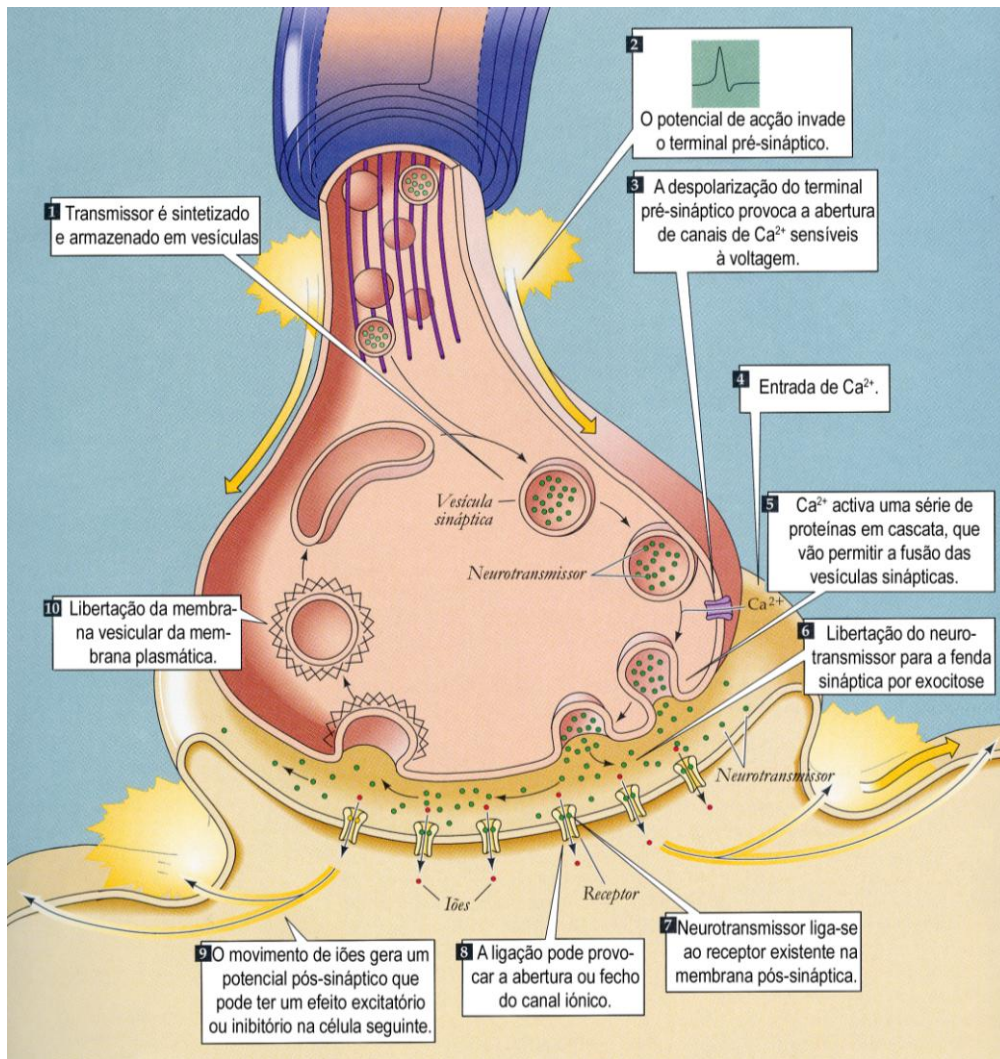


Figura 10 – Funcionamento de uma sinapse química. (Adaptado de Purves, et al., 2008).

1.2.3 – Efeitos do álcool em receptores de neurotransmissores

O etanol presente nas bebidas alcoólicas pode apresentar no organismo uma acção não específica e uma acção específica. A acção não específica do etanol está relacionada com os efeitos nas membranas celulares, nomeadamente com a capacidade que o etanol possui de alterar a fluidez da bicamada fosfolipídica, interagindo com proteínas membranares e com as cabeças polares dos fosfolípidos que constituem as membranas. A acção específica refere-se à acção do etanol sobre canais iónicos específicos (sobretudo os envolvidos na transmissão

sináptica de alguns neurotransmissores), bem como à sua capacidade de interferir com a função de outros mensageiros secundários (Meyer e Quenzer, 2005).

Alguns autores, como Diamond e Messing (1994) e Julien (1998), referem que a hipótese relacionada com a alteração da fluidez das membranas por parte do etanol para explicar os seus efeitos tem vindo a ser substituída pelos novos conhecimentos relativos à influência do etanol na transmissão sináptica. Durante muito tempo, pensou-se que o álcool actuava ao nível do SNC através de uma acção disruptiva (não selectiva) sobre as membranas dos neurónios, que seria devida à natureza química da molécula de etanol (Davies, 2003; Meyer e Quenzer, 2005). Esta acção não específica seria devida à capacidade que a molécula de etanol tem de se deslocar através das membranas, alterando a fluidez da bicamada fosfolipídica que as compõe. Contudo, há já algum tempo que se crê que esta não é a principal forma de acção do etanol. Segundo o autor, os estudos realizados têm vindo a salientar a interacção da molécula de etanol com neuroreceptores específicos, canais iónicos regulados pela ligação de neurotransmissores.

A acção do etanol verifica-se sobretudo ao nível dos receptores específicos para dois neurotransmissores: GABA (ácido gama-aminobutírico) e glutamato. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório nos mamíferos, enquanto que o GABA é o principal neurotransmissor com função inibitória.

- **Glutamato**

O termo glutamato é usado para designar a forma ionizada do ácido glutâmico. O termo glutamato será utilizado para designar este neurotransmissor ao longo de todo o trabalho, uma vez que a sua forma mais comum no organismo é a forma ionizada. Este neurotransmissor é sintetizado a partir da glutamina, presente na alimentação, por intermédio da enzima glutaminase (figura 11).

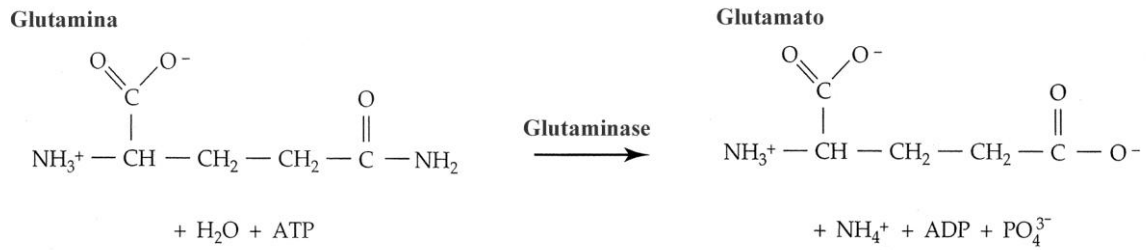


Figura 11 – Síntese de glutamato. Por acção da enzima glutaminase, a glutamina é transformada em glutamato. (adaptado de Meyer e Quenzer, 2005)

Uma vez produzido, o glutamato é armazenado em vesículas específicas, para onde é transportado por proteínas de membrana das vesículas designadas pelas siglas VGLUT (*vesicular glutamate transporter* – transportador vesicular de glutamato). Existem três tipos diferentes de transportadores, designados por VGLUT₁, VGLUT₂ e VGLUT₃ e são usados frequentemente como marcadores de neurónios glutamatérgicos, pois apenas se encontram neste tipo de células (figura 12).

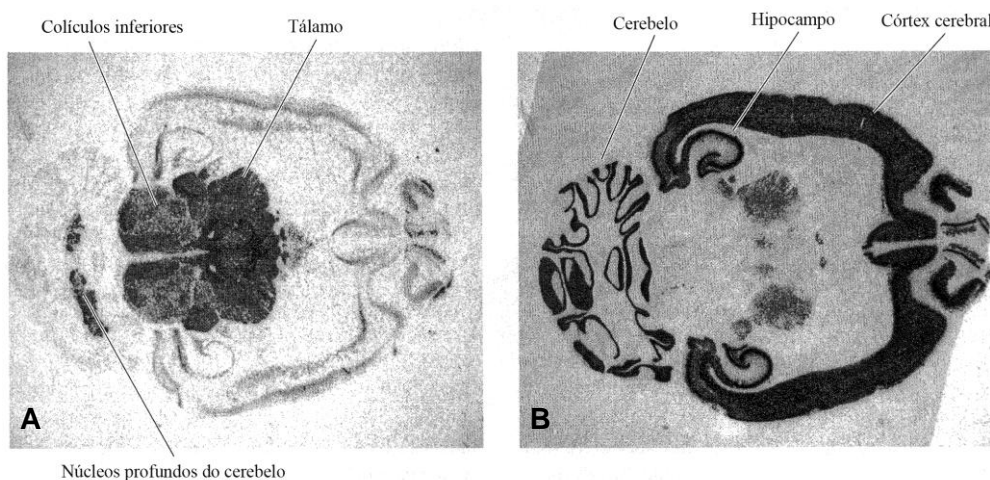


Figura 12 – Localização de VGLUT no encéfalo de ratos. Secções horizontais do cérebro de ratos mostram a localização de mRNA para VGLUT2 (A) e VGLUT1 (B). (adaptado de Meyer e Quenzer, 2005).

Uma vez libertado na fenda sináptica, o glutamato liga-se a receptores específicos na membrana pós-sináptica (dos quais falaremos mais em pormenor a seguir) e é posteriormente removido por intermédio de outras proteínas transportadoras específicas, as EAAT (*excitatory amino acid transporter* – transportador de aminoácidos excitatórios), que actuam do mesmo

modo com o aspartato (outro aminoácido excitatório). Existem também três tipos destas proteínas, EAAT1, EAAT2 e EAAT3, sendo que os dois primeiros desempenham um papel mais importante na remoção do glutamato da fenda sináptica. Os EAAT1 e EAAT2 encontram-se nas membranas de astrócitos próximos da fenda sináptica, sendo eles que incorporam o glutamato, transformando-o em glutamina por acção da enzima glutamina-sintetase.

A glutamina é de novo transportada para fora dos astrócitos e recaptada pelos neurónios, onde pode ser de novo convertida em glutamato, reiniciando-se o ciclo (figura 13). Esta remoção do neurotransmissor da fenda sináptica é extremamente importante, pois a presença de glutamato em excesso na fenda sináptica pode provocar lesão ou morte neuronal.

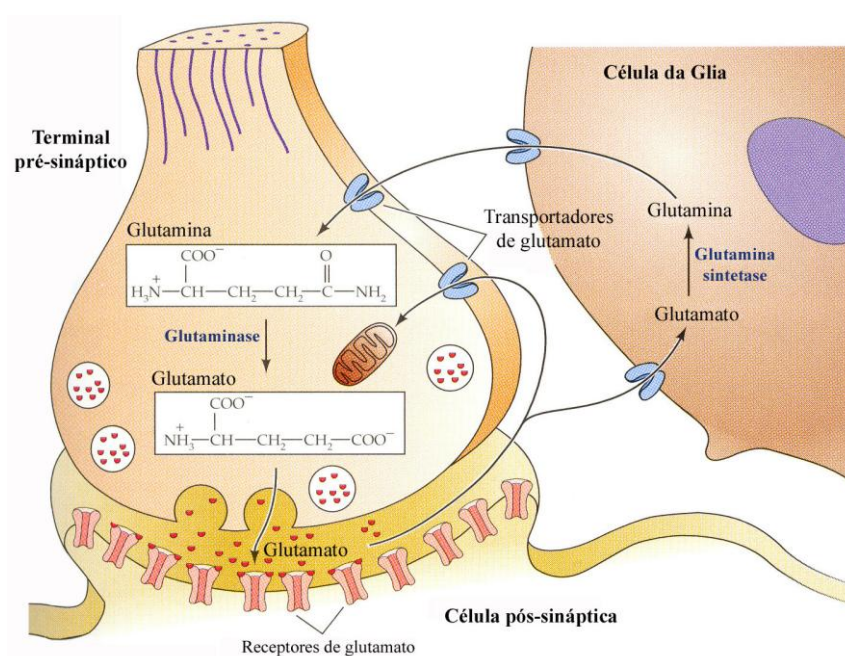


Figura 13 – Esquema representativo do ciclo do glutamato. Após a sua libertação na fenda sináptica, o glutamato é recaptado para o interior da célula pré-sináptica e armazenado em vesículas específicas ou transportado para as células da glia, onde é convertido em glutamina, que pode ser reutilizada para a produção de glutamato quando necessário. (adaptado de Meyer e Quenzer, 2005)

Os receptores de glutamato podem ser subdivididos em duas grandes categorias: ionotrópicos (os que são canais iónicos) e metabotrópicos (que activam sistemas intracelulares de mensageiros secundários). Neste trabalho serão abordados apenas os receptores ionotrópicos, pois é sobre eles que o etanol actua (Kandel, Schwartz e Jessell , 1998). Os

receptores ionotrópicos são canais iónicos que permitem a passagem de catiões, nomeadamente Na^+ , K^+ e em alguns casos Ca^{2+} , em pequenas quantidades, induzindo a despolarização da célula nervosa e eventual desencadeamento de um potencial de acção (daí que o glutamato seja considerado um neurotransmissor excitatório). Foram identificados vários tipos destes receptores, de acordo com o tipo de agonista que os activa. Assim, podemos referir os receptores NMDA, AMPA e cainato, activados respectivamente por N-metil-D-aspartato (NMDA), α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole-propionato (AMPA) e ácido caínico (cainato) (Purves, 2008).

De todos estes tipos de receptores, daremos especial atenção aos receptores de NMDA, uma vez que é sobre estes que se verificam os principais efeitos do etanol ao nível do SNC (Nelson e Gruol, 2005). Estes receptores encontram-se largamente distribuídos quer no cérebro, quer na medula espinal, assumindo densidades maiores no hipocampo e córtex cerebral (figura 14). O etanol actua sobre os receptores de NMDA, inibindo a passagem de catiões e dificultando assim o estabelecimento de um potencial de acção.

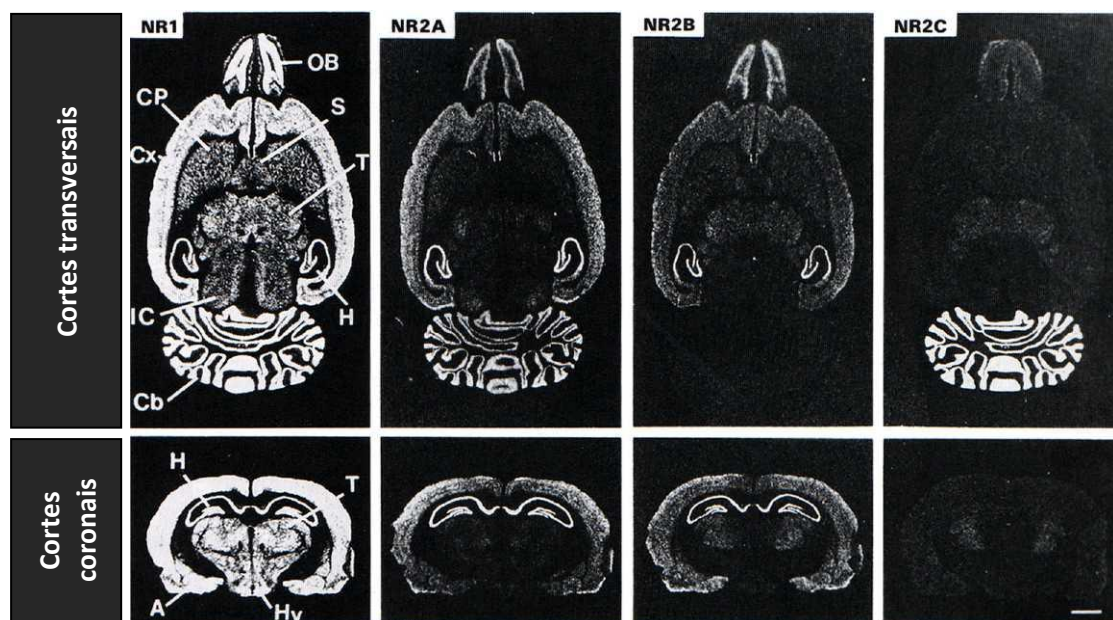


Figura 14 – Distribuição de várias subunidades dos receptores NMDA do glutamato no cérebro de murganhos. As designações NR1, NR2A, NR2B e NR2C correspondem à subunidade mapeada. A - amígdala; H - hipocampo; Cb - cerebelo; CP - núcleo caudado e putamen; Cx - córtex; Hy - hipotálamo; IC - colículos inferiores; OB - bulbo olfactivo; S - núcleos septados; T - núcleos do tálamo. (Imagem extraída da internet)

▪ **GABA**

O GABA (ácido gama-aminobutírico) é, em conjunto com a glicina, o neurotransmissor utilizado pela maioria das sinapses inibitórias. Neste trabalho iremos focar-nos apenas no GABA. Este neurotransmissor é sintetizado a partir do glutamato numa reacção catalisada pela enzima glutamato descarboxilase (GAD), que converte L-glutamato em GABA e CO₂. Uma vez produzido, o GABA é armazenado em vesículas. Uma vez libertado na fenda sináptica, este neurotransmissor liga-se a receptores específicos na membrana pós-sináptica e é posteriormente removido por intermédio de proteínas transportadoras vesiculares de aminoácidos inibitórios (*vesicular inhibitory aminoacid transporter* - VIATT) com elevada afinidade quer para o GABA, quer para a glicina, sendo novamente armazenado em vesículas. Este neurotransmissor pode ainda ser convertido em succinato, que irá ser utilizado no ciclo do ácido tricarboxílico que medeia a síntese de ATP na mitocôndria (figura 15).

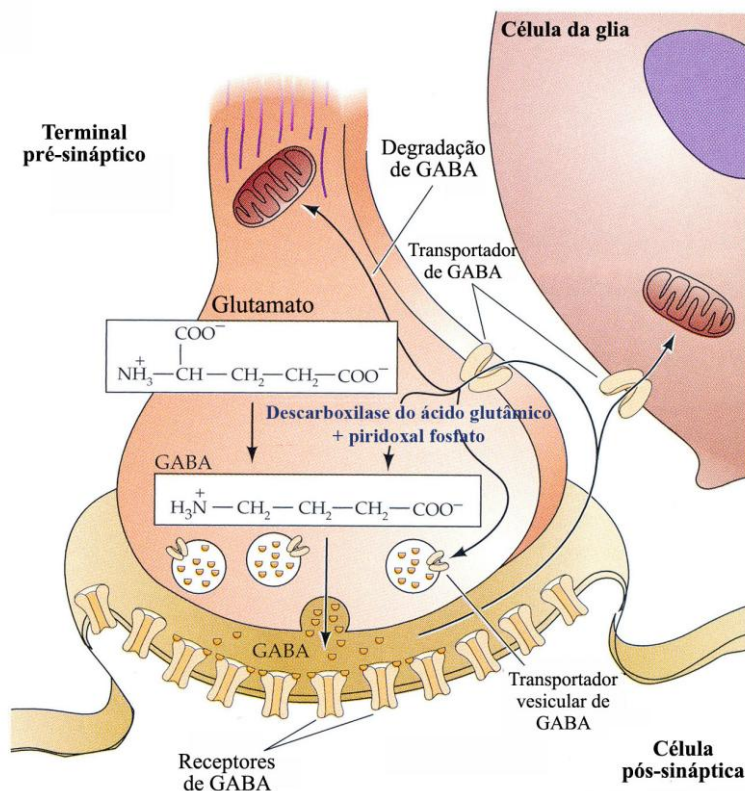


Figura 15 – Esquema representativo do ciclo do GABA. Após a sua libertação na fenda sináptica, o GABA é recaptado para o interior da célula pré-sináptica através de transportadores com elevada afinidade e é armazenado de novo em vesículas ou convertido em succinato que será depois utilizado em processos envolvidos na síntese de ATP. (adaptado de Meyer e Quenzer, 2005).

Uma vez libertado na sinapse, o GABA interage com o seu receptor que é formado por várias subunidades – receptor GABA_A, aumentando o influxo de iões Cl⁻ para o interior da membrana pós sináptica e induzido uma hiperpolarização da membrana. Assim, a dificuldade de estabelecimento de um potencial de acção será maior, de onde resulta o efeito inibitório do GABA. Para além do local de ligação para o GABA, o complexo receptor GABA_A apresenta ainda outros locais de ligação, aos quais se podem ligar outros agonistas do GABA, tais como as benzodiazepinas ou os barbitúricos. O álcool funciona como modulador deste neurotransmissor, potenciando a sua acção através do aumento do tempo de abertura do canal de Cl⁻.

Os receptores para o GABA encontram-se em estruturas como o córtex frontal, hipocampo e cerebelo (figura 16), o que comprometerá funções como a memória ou formação de novas aprendizagens e coordenação motora.

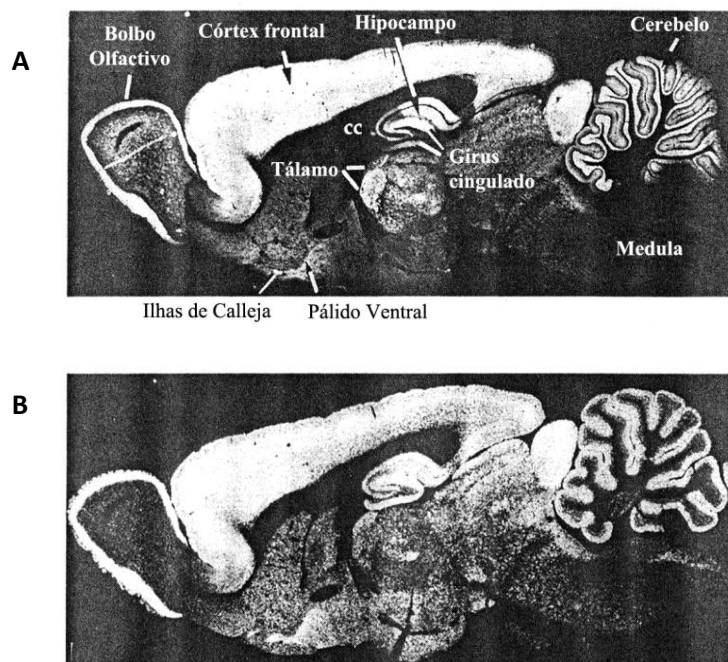


Figura 16 – Localização dos receptores GABA_A no encéfalo de ratos. A localização foi obtida através de técnicas de imunocitoquímica (A) e autoradiografia (B) (adaptado de Feldman, *et al.*, 1997).

1.3 – Funções afectadas pelo consumo de álcool

1.3.1 – Coordenação motora

O corpo humano é capaz de uma grande diversidade de movimentos que podem, eles próprios, ser dotados de um grau de complexidade muito grande. Mesmo um movimento simples exige a contracção ordenada e com determinada intensidade de um grande número de músculos. Por isso mesmo, a função dos centros nervosos de controlo do movimento envolve muito mais que a simples estimulação da contracção individual dos músculos. É necessário coordenar no tempo a contracção dos vários grupos musculares envolvidos, a intensidade da sua contracção, e a distribuição da massa corporal para determinar os ajustes da postura necessários à realização do movimento pretendido sem perda de equilíbrio. Para isso é preciso também integrar toda a informação respeitante às propriedades específicas de cada músculo, osso ou tendão para que o movimento possa ser gerado convenientemente (Kandel, Schwartz e Jessel, 1998). A contracção muscular é um tipo de resposta que o organismo pode gerar em função de um determinado estímulo sensorial. Os órgãos sensoriais recebem um estímulo e a informação é conduzida através dos nervos do sistema nervoso periférico até ao SNC. Este faz a integração de toda a informação recebida, e em função disso gera uma resposta somática/motora.

Neste trabalho daremos particular atenção ao controlo do movimento do tipo voluntário para que depois se possa entender melhor os efeitos do etanol na coordenação motora. As estruturas do encéfalo envolvidas na iniciação e controlo do movimento voluntário encontram-se representadas na figura 17.

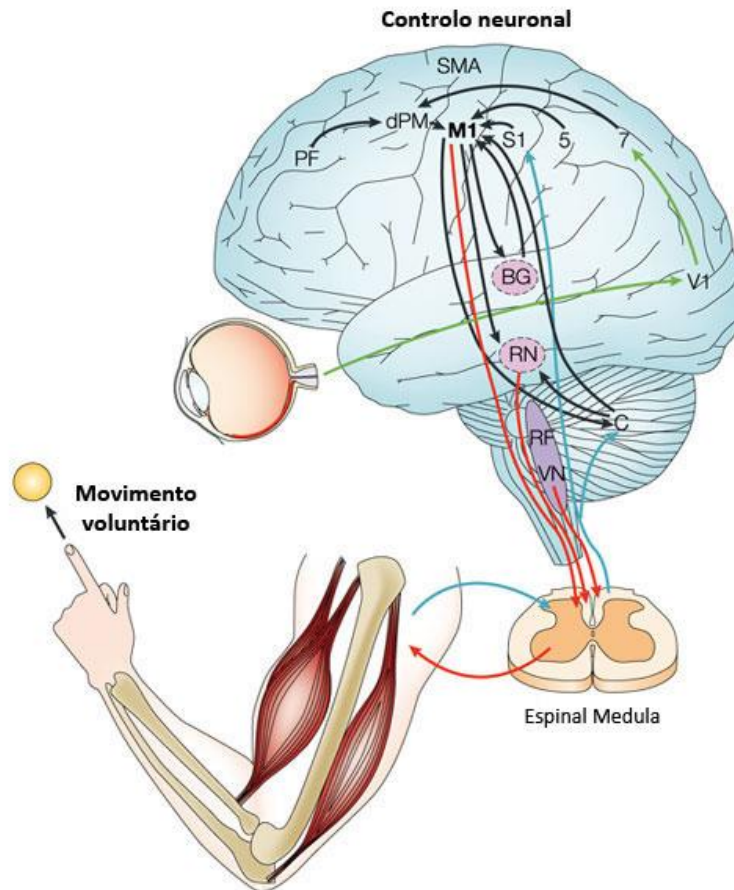


Figura 17 – Esquema geral do mecanismo de controlo do movimento voluntário e estruturas do encéfalo envolvidas: córtex cerebral (V1 – córtex visual primário, PF – córtex pré-frontal, dPM – córtex pré-motor dorsal, M1 – córtex pré-motor, SMA – área motora suplementar, S1 – córtex somatosensorial, 5 – área 5 do córtex parietal, 7 – área do córtex parietal posterior, BG – gânglios da base, RN – núcleo rubro), cerebelo (C), tronco cerebral (RF – formação reticular, VN – núcleos vestibulares) e espinhal medula, de onde partem neurónios motores (seta vermelha) e neurónios que conduzem o feed-back sensorial dos músculos, pele e articulações até ao encéfalo e cerebelo (seta azul). (Adaptado de Scott, 2004).

Um movimento voluntário, para que se inicie, terá de ser preparado e planeado em áreas motoras do encéfalo, e só depois é enviada a ordem para os músculos que os levará a contrair. As áreas responsáveis pelo planeamento do movimento são o córtex pré-motor e a área motora suplementar. Estas zonas estão em estreita ligação com áreas sensoriais do encéfalo, tais como as áreas 5 e 7 do córtex parietal. São as áreas sensoriais que fornecem a informação do ambiente que nos rodeia nos dão a percepção do espaço, dos objectos e do próprio corpo incluindo o estado dos músculos e das articulações. Daí que seja praticamente

impossível dissociar o planeamento motor da informação sensorial, pois é em função desta que o movimento é planeado e se realiza (Nichols, 2001).

Embora o seu contributo específico ainda seja alvo de discussão, sabe-se que os gânglios da base são importantes para o início adequado do movimento, tal como demonstram os distúrbios no seu funcionamento nos doentes de Parkinson ou com doença de Huntington. Os gânglios da base, são um conjunto de estruturas (globo pálido, putamen e núcleo caudado) estreitamente relacionadas entre si do ponto de vista funcional. Estas estruturas recebem informação do córtex motor suplementar e do córtex sensorial e integram-na, gerando a informação necessária para que o movimento se inicie de forma correcta com vista a atingir um determinado fim. Esta informação é enviada para o córtex motor.

Já ao nível do córtex cerebral, existem outras áreas envolvidas no controlo do movimento voluntário, nomeadamente o córtex pré-motor e a área motor suplementar, cuja localização é adjacente ao córtex motor primário. As áreas pré-motoras estão envolvidas na selecção dos movimentos a realizar e no controlo temporal desses mesmos movimentos, enquanto que a área motora suplementar parece estar relacionada com a organização de movimentos complexos.

O córtex motor primário é constituído por neurónios que controlam grupos musculares específicos, o que resulta numa organização somatotópica das áreas motoras do córtex cerebral. Foi em 1901 que Charles Sherrington realizou uma série de experiências com a estimulação directa das várias zonas do córtex motor primário, tendo demonstrado que consoante a zona estimulada se induzia a contracção de grupos musculares específicos. Daqui terá resultado uma representação do córtex motor em função da zona do corpo que é controlada (Figura 18). Assim, o córtex motor primário é responsável pela estimulação de grupos particulares de músculos, consoante a informação que recebe dos centros de controlo do movimento.

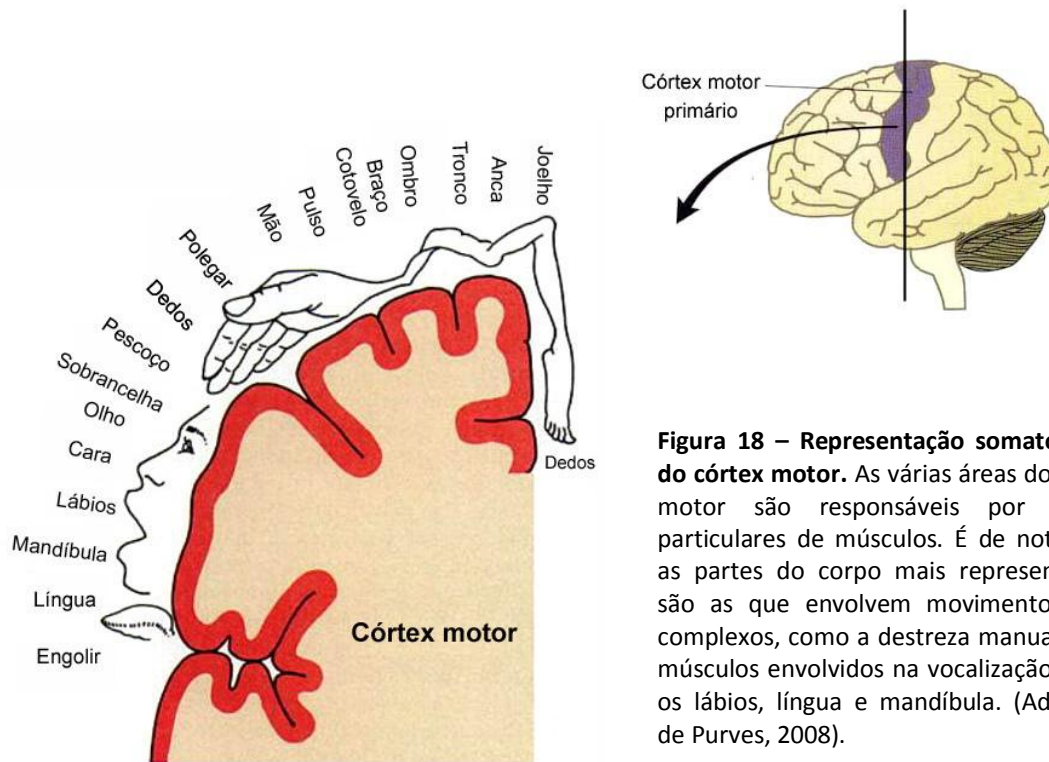


Figura 18 – Representação somatotópica do córtex motor. As várias áreas do córtex motor são responsáveis por grupos particulares de músculos. É de notar que as partes do corpo mais representativas são as que envolvem movimentos mais complexos, como a destreza manual ou os músculos envolvidos na vocalização, como os lábios, língua e mandíbula. (Adaptado de Purves, 2008).

As áreas de controlo do córtex motor influenciam também directamente o tronco cerebral, que por sua vez também faz integração de informação sensorial. As suas funções estão relacionadas principalmente com o controlo da postura, embora também tenha importância na coordenação dos movimentos finos dos dedos e das mãos (Kandel, Schwartz e Jessel, 1998).

Outra estrutura importante no controlo do movimento é o cerebelo. Se os gânglios basais controlam o início do movimento, o cerebelo controla o movimento durante a sua execução, efectuando correcções constantes para que o movimento seja adequado. Esta estrutura é, em termos evolutivos, uma das mais antigas no sistema nervoso dos vertebrados, e tal como o córtex cerebral, divide-se em dois hemisférios bilaterais simétricos que apresentam uma série de sulcos superficiais, o que permite uma maior área em menor volume. O cerebelo recebe informação de *feed-back* sensorial, compara-a com a informação do movimento pretendido emitida pelos centros de comando do movimento no córtex cerebral, e em função disso actua sobre os centros motores do córtex cerebral de forma a

efectuar as correcções necessárias para que o movimento seja realizado com sucesso (Purves, 2008). Todas as vias de entrada e saída de informação quer dos gânglios basais, quer do cerebelo, passam pelo tálamo. É ele que faz a ligação física entre o córtex cerebral e os centros de controlo referidos.

É na medula espinal que os neurónios superiores (provenientes do córtex motor e tronco cerebral) estabelecem sinapses com interneurónios ou directamente com os neurónios motores inferiores, cujos corpos celulares se encontram inseridos na matéria cinzenta da medula e que vão estabelecer sinapses directamente com os músculos efectores, ao nível das junções neuromusculares. A medula espinal é uma estrutura muito importante na execução dos movimentos, uma vez que contém os neurónios que inervam todos os músculos do corpo abaixo da cabeça. É de referir que os neurónios que partem da medula espinal também têm funções importantes na geração de movimentos reflexos, independentes de controlo de níveis superiores. Parte desses reflexos são muito importantes na manutenção do *tonus* muscular, de modo a que o corpo possa manter a postura e a que a contracção muscular seja adequada à execução do movimento pretendido (Thompson 2004). O esquema da figura 19 resume o que foi dito sobre o controlo e geração do movimento.

Os circuitos neuronais envolvidos no controlo do movimento usam vários neurotransmissores, entre eles o glutamato e o GABA. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório usado pelos centros superiores de controlo do movimento no córtex motor, nos gânglios da base e no cerebelo. O GABA é também muito importante nos circuitos dos gânglios da base e na transmissão da informação para o córtex motor. Além disso toda a saída de informação do cerebelo para o córtex é mediada por neurónios GABAérgicos (Nestler, Hyman e Malenka, 2001; Thompson 2004). Como o álcool interfere com os receptores destes neurotransmissores, também o movimento será afectado, uma vez que a integração e a transmissão da informação para planear, iniciar e corrigir o movimento estão comprometidas.

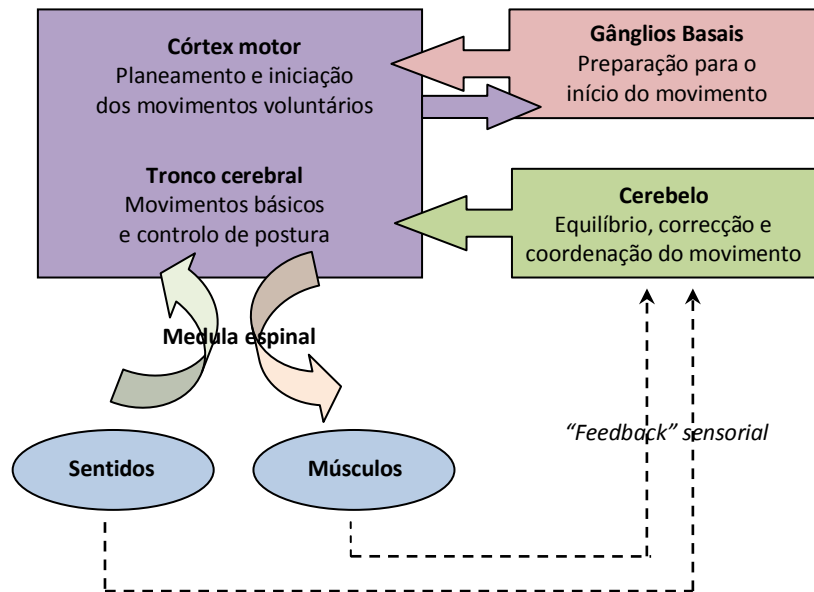


Figura 19 – Esquema geral do início e controlo do movimento voluntário. Os gânglios basais são responsáveis pela preparação e iniciação do movimento, enquanto que o cerebelo determina as correcções necessárias para que o movimento seja executado de forma correcta com base no *feedback* que recebe dos órgãos sensoriais. O tronco cerebral controla a postura, juntamente com os neurónios da medula espinal, responsáveis por manter o *tonus* muscular necessário. Os nervos eferentes da medula espinal transmitem a informação resultante até aos músculos por forma à correcta execução do movimento pretendido.

1.3.2 – Memória e aprendizagem

Talvez uma das capacidades mais importantes do cérebro é a de reter e usar informação recebida, isto é, a capacidade de memorização. Este termo não deve ser confundido com outro que lhe está estreitamente relacionado: a aprendizagem. Assim, entende-se por aprendizagem o processo pelo qual o organismo adquire informação ou capacidades e por memória o processo pelo qual o organismo armazena e mobiliza essa mesma informação ou executa determinada habilidade (Thompson, 2004; Purves, 2008).

A memória é um processo muito complexo, e envolve mecanismos muito diversos. Como tal, ele é categorizado tanto em termos temporais (tempo de duração da informação após a sua aquisição) como em termos qualitativos (consoante os processos envolvidos ou tipo de informação mobilizada). Em termos temporais podemos distinguir então, de acordo com

Purves (2008) e Thompson (2004): memória imediata (sensorial), memória de curto prazo e memória a longo prazo. Entende-se por memória imediata uma capacidade de armazenar informação durante alguns segundos. É ela que nos dá a sensação do presente. No entanto, embora o cérebro seja capaz de armazenar deste modo uma grande quantidade de informação (visual, verbal, sonora, ...), ela dura muito pouco tempo. Parte dessa informação é esquecida, e a que perdura transforma-se então numa memória a curto prazo, em que o tempo de permanência da informação pode durar até alguns minutos. A repetição, evocação ou exercício da informação ou capacidade adquirida será o mecanismo que determinará a permanência da informação na memória (neste caso a longo prazo) num período de tempo que pode ir de muitas horas a vários anos. Contudo, conforme se encontra referido em Aaron (2003), embora o exercício e repetição tenham um papel fundamental na transferência da informação para a memória a longo prazo, existem outros factores que influenciam grandemente o processo, tais como a profundidade de processamento da informação, compreensão da mesma, atenção, motivação e concentração. No entanto, é ainda de referir que existe uma pequena parte da informação sensorial adquirida (de carácter visual) que, segundo Thompson (2004) passa directamente para a memória a longo prazo (Figura 20).

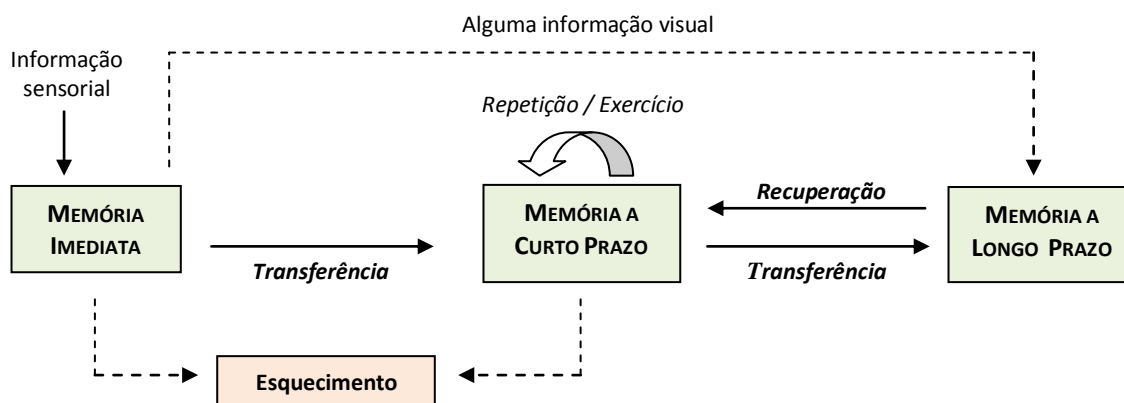


Figura 20 – Modelo geral de armazenamento de informação na memória. A aquisição de informação dá-se ao nível da memória imediata, sendo transferida para a memória a curto prazo. No entanto, a informação adquirida só permanece na memória se for repetida ou exercitada. Caso contrário perde-se e é esquecida. (Adaptado de Aaron, 2003 e de Thompson, 2004).

Pode ser feito um outro tipo de divisão da memória, dividindo-a em duas categorias principais: declarativa e não declarativa (Thompson, 2004; Purves, 2008) (Figura 21). Entende-se por memória declarativa o processo que nos permite recordar factos ou acontecimentos, isto é, informação que recordamos de forma consciente. A memória não declarativa está associada a capacidades, sejam elas motoras ou cognitivas, mas que não recordamos de forma consciente; simplesmente executamos.

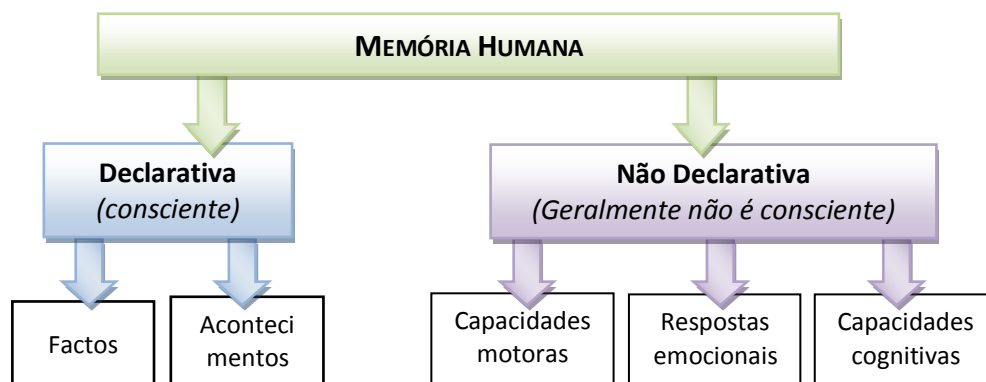


Figura 21 – Esquema representativo dos vários aspectos qualitativos da memória humana. A memória declarativa está relacionada com o que recordamos (factos e eventos) de uma forma consciente. A memória não declarativa está mais relacionada com capacidades e respostas do nosso organismo que foram sendo adquiridas ao longo de uma aprendizagem inconsciente. (Adaptado de Purves, 2008).

Existem diferentes regiões cerebrais envolvidas na formação de diferentes tipos de memórias. No que respeita à memória a curto prazo, uma das estruturas mais relevantes é o córtex pré-frontal. Esta estrutura está de algum modo envolvida na aquisição deste tipo de memórias, bem como na sua repetição por forma a passarem para a memória a longo prazo, sendo que lesões nesta área do cérebro induzem problemas no processo de formação de novas memórias, mais até que na perda de informação em si (Thompson, 2004).

Uma das estruturas mais importantes na transferência da informação/capacidade adquirida para a memória a longo prazo é o hipocampo (Aaron, 2003; Thompson, 2004; Purves, 2008). O processo de formação de novas memórias, o seu armazenamento na

memória a longo prazo, envolve alterações ao nível das sinapses sendo que os principais mecanismos funcionais propostos são a Potenciação de longa duração (LTP – Long Term Potentiation) e Depressão de longa duração (LTD – Long Term Depression).

O mecanismo de LTD consiste na diminuição da resposta a um potencial de acção numa célula pós-sináptica e é induzido por uma estimulação mais reduzida. O mecanismo de LTP, pelo contrário, é uma alteração sináptica que consiste num aumento da resposta a um potencial de acção numa célula pós-sináptica. É aceite que a formação de memórias depende da capacidade que as sinapses químicas têm de alterar a sua “força”, ou seja, depende da capacidade de plasticidade sináptica dos neurónios envolvidos. Sendo que a LTP é um dos mecanismos que permite plasticidade sináptica, então será de admitir que assume um papel importante na formação de uma nova memória ou numa nova aprendizagem (Thompson, 2004).

Para que o mecanismo de LTP se estabeleça, é necessário que a célula pré-sináptica estimule com séries repetidas de breves potenciais de acção a célula pós-sináptica que provocam uma forte despolarização. Ao conjunto destes estímulos chama-se estímulo tetânico. Uma vez estabelecido este mecanismo, qualquer potencial de acção gerado posteriormente terá na célula pós-sináptica um efeito muito maior do que tinha antes. Ou seja, a resposta é potenciada. Este é um processo que se pode manter estabelecido por períodos de tempo que podem ir de várias horas até semanas, dependendo do número e frequência dos potenciais de acção que o geram (Campbell e Reece, 2008). O mecanismo de LTP ocorre sobretudo em sinapses que utilizem os receptores de NMDA de glutamato. A figura 22 mostra o que acontece numa célula antes e depois da LTP. Quando pequenos estímulos semelhantes aos que constituem o estímulo tetânico, mas aplicados a baixa frequência, a chegada do potencial de acção à célula pré-sináptica induz a libertação de uma pequena quantidade de glutamato. Este, uma vez na fenda sináptica, vai ligar-se aos seus receptores AMPA e NMDA. Só os primeiros abrem, permitindo a entrada de Na⁺ e

consequente despolarização da membrana pós-sináptica, mas esta despolarização não é suficiente para que haja a saída do íon Mg^{2+} que bloqueia o receptor NMDA (Meyer e Quenzer, 2005). Contudo, numa estimulação tetânica, isto é, quando estes estímulos de elevada frequência (por exemplo, 100 estímulos por segundo), a quantidade de glutamato libertada é muito superior, permitindo com a sua ligação ao receptor AMPA a expulsão do íon Mg^{2+} dos receptores de NMDA e consequente abertura do canal. Através deste canal entram na célula íões Ca^{2+} que activam uma cascata de reacções enzimáticas, tendo como resultado a fosforilação dos receptores de AMPA, tornando-os mais sensíveis ao glutamato e a inserção de mais receptores AMPA na membrana pós-sináptica (figura 23). Por outro lado, alguns investigadores sugerem que a entrada de Ca^{2+} poderá ainda induzir a produção de um mensageiro químico na membrana pós-sináptica. Este mensageiro actua na membrana pré-sináptica induzindo alterações que poderão levar à libertação de maiores quantidades de glutamato. É este conjunto de eventos que torna a célula pós-sináptica mais sensível (Nestler, Hyman e Malenka 2001; Meyer e Quenzer, 2005).

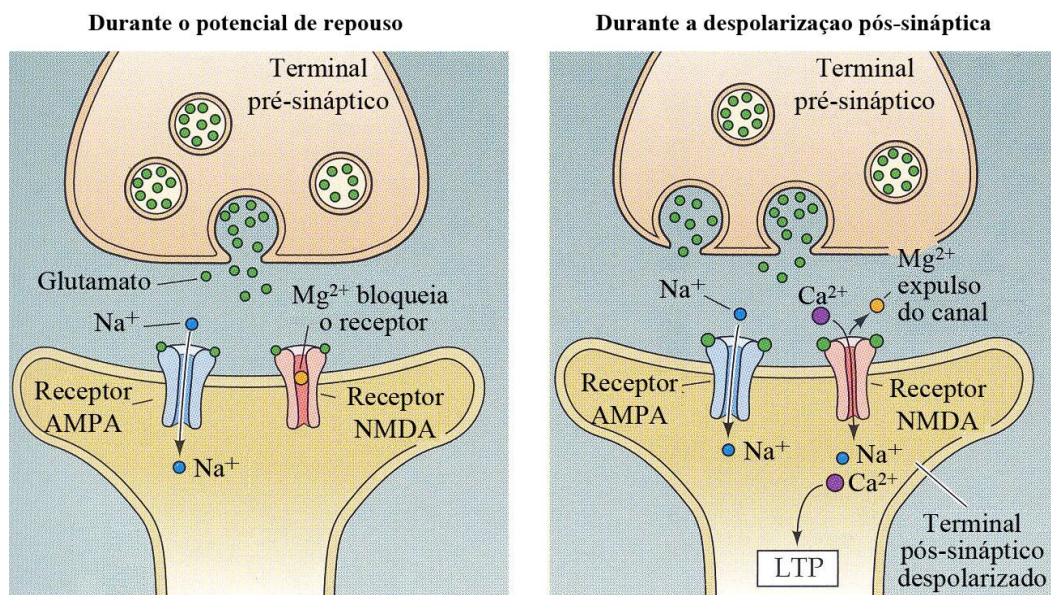


Figura 22 – Mecanismos subjacentes a LTP. Durante um estímulo normal, os receptores de NMDA permanecem fechados, bloqueados por Mg^{2+} . Contudo, quando o estímulo é de maior frequência, o íon Mg^{2+} é libertado do receptor NMDA, que se torna assim permeável à passagem de Ca^{2+} , potenciando a despolarização da célula pós-sináptica. (Adaptado de Meyer e Quenzer, 2005).

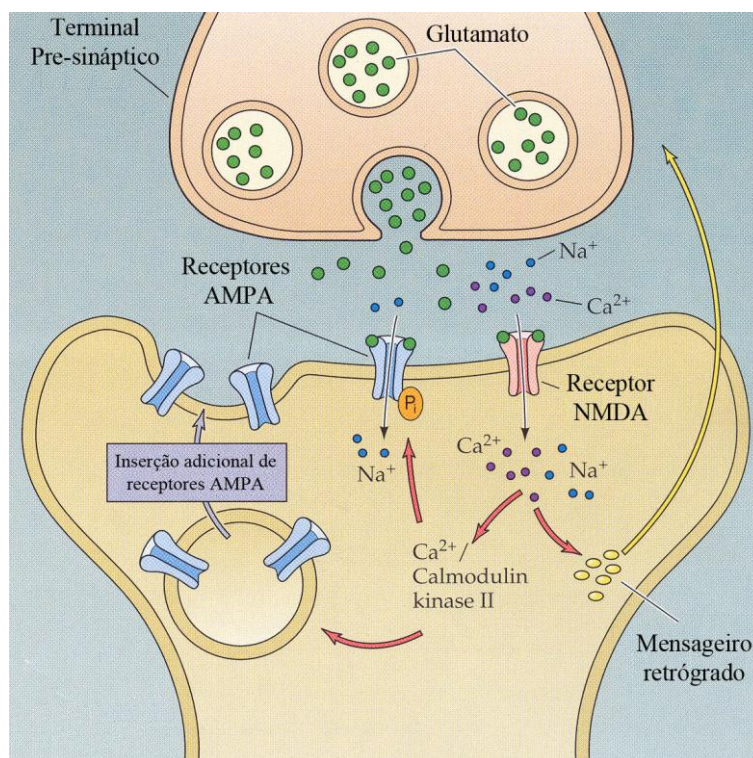


Figura 23 – Alterações na célula pós-sináptica que permitem o estabelecimento da LTP. A liberação de maiores quantidades de glutamato permite a entrada de Ca^{2+} para a célula, que tem como consequências finais a activação de uma cascata de proteínas que torna a célula mais sensível ao glutamato e a produção de mensageiros que actuam ao nível da célula pré-sináptica. (Adaptado de Meyer e Quenzer, 2005).

É sobretudo ao nível do hipocampo que este processo tem lugar. Assim sendo, esta é uma estrutura cerebral com um papel muito importante na formação de memórias a longo prazo. Mas para além desta estrutura, existem outras estruturas importantes na formação de memórias, tais como o córtex motor, para as aprendizagens que envolvam capacidades motoras, a amígdala (sistema límbico) e o cerebelo para aprendizagens baseadas em associações básicas relacionadas, respectivamente, com respostas emocionais ou da musculatura esquelética. Em algumas destas estruturas existem receptores para os neurotransmissores com os quais o etanol interfere, nomeadamente os receptores NMDA de glutamato, nomeadamente no hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal, sendo que a transmissão sináptica relacionada com os neurotransmissores referidos ao nível destas

estruturas estará comprometida devido à acção inibitória do etanol sobre os referidos receptores, bem como o processo de formação de novas memórias.

1.3.3 – Compulsão e sistema de recompensa

Vários modelos foram propostos para a viciação. Um dos motivos que pode levar à procura compulsiva por uma determinada substância é a tentativa de alívio dos sintomas de privação induzidos pelo não consumo. Os sintomas de privação constituem assim um reforço negativo que leva os indivíduos a procurar o consumo. Contudo, embora este seja um factor importante, não explica os casos em que os indivíduos continuam a procurar a droga, mesmo depois de os sintomas de privação serem tratados (por exemplo, em programas de desintoxicação).

O álcool é uma das substâncias que maior potencial de viciação tem nos seus consumidores. De um ponto de vista comportamental, a viciação pode ser definida como a procura compulsiva e descontrolada de determinada substância, apesar do reconhecimento dos efeitos nocivos e consequências sociais adversas que o seu consumo pode induzir. Algumas definições antigas associavam a viciação à dependência. Contudo, este critério para a definição perde consistência no caso de drogas que induzem viciação mas cujos sintomas de privação estão relacionados apenas com aspectos emocionais e motivacionais, sem que surjam sintomas físicos proeminentes de privação. É o caso da cocaína e das anfetaminas, cuja privação está associada com sintomas depressivos, o que motivará a procura compulsiva da droga (Meyer e Quenzer, 2005).

Existem vários factores que podem contribuir para o desenvolvimento de um comportamento viciado. O início do consumo de uma determinada droga pode ser determinado por factores de ordem social, psicológica, genética ou mesmo ambiental, que não são do âmbito deste trabalho. Contudo, uma vez no organismo, a droga induz a viciação actuando directamente ao nível do cérebro.

As drogas podem actuar como um estímulo positivo, na medida em que por um lado os indivíduos os associam a determinado contexto social que lhes é agradável, por outro há as sensações agradáveis que o seu consumo pode induzir. Em grande parte, as sensações agradáveis são decorrentes de efeitos das drogas de abuso nos mecanismos cerebrais de recompensa. Existem circuitos cerebrais que têm como finalidade reforçar comportamentos fundamentais à sobrevivência humana (e dos mamíferos em geral), tais como comer, beber ou relações sexuais (reprodução). Sempre que estes tipos de comportamentos são executados, o indivíduo tem uma sensação associada de prazer que funciona como um reforço positivo à repetição do comportamento (Roberts e Koobs, 1997; Nestler, Hyman e Malenka, 2001; Meyer e Quenzer, 2005). Este “sistema de recompensa” envolve o sistema mesolímbico dopaminérgico constituído por neurónios que projectam da área tegmental ventral (VTA) para o núcleo acumbens (NAc) e para regiões do córtex frontal (figura 24).

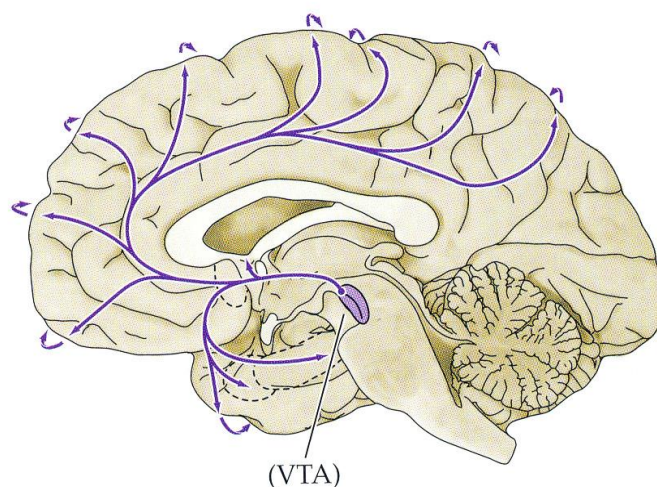


Figura 24 – Sistema mesolímbico dopaminérgico. As setas indicam as projecções dopaminérgicas que partem da área tegmental ventral (VTA) até ao núcleo acumbens (NAc) e para o córtex cerebral, hipocampo, amígdala, tálamo e outros componentes do sistema límbico. (Extraído de Meyer e Quenzer, 2005).

A activação deste sistema, e a libertação de dopamina no núcleo accumbens (NAc) é um factor comum a todas as drogas de abuso e tem um papel muito importante no desenvolvimento da viciação. De acordo com estudos recentes, o álcool actua em vários locais

deste sistema e induz a libertação de dopamina no NAc, em quantidades superiores à libertação induzida pelos estímulos naturais do sistema de recompensa. O etanol actua em neurónios GABAérgicos existentes no NAc que projectam para a VTA onde exercem um retrocontrolo negativo sobre a libertação de dopamina. Quando os níveis de dopamina no NAc são muito elevados, os neurónios GABAérgicos são activados e a libertação de GABA inibe os neurónios dopaminérgicos da VTA. Na presença de etanol, a actividade dos neurónios GABAérgicos é reduzida, pelo que o controlo negativo sobre a VTA não se efectua, libertando-se assim maiores quantidades de dopamina (Spanangel, 2009) (figura 25).

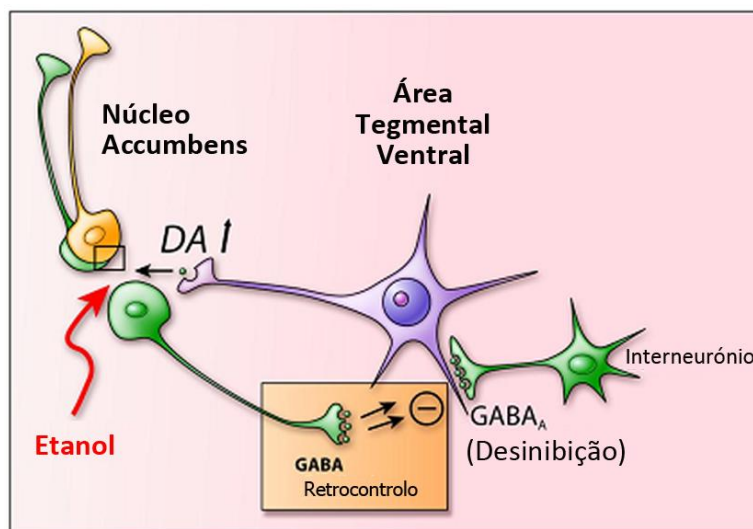


Figura 25 – Acção do etanol no mecanismo de controlo de libertação de dopamina pelos neurónios GABAérgicos. A inibição destes neurónios pelo etanol reduz a libertação de GABA na VTA e aumenta assim a libertação de dopamina (desinibição dos neurónios dopaminérgicos). (Adaptado de Spanangel, 2009).

O etanol interfere também com outros mecanismos de controlo da libertação de dopamina, nomeadamente actuando sobre receptores de glutamato. Existem neurónios glutamatérgicos provenientes do córtex pré-frontal, amígdala, hipocampo que estabelecem sinapses no NAc, e regulam a libertação de dopamina. No entanto, ainda não se sabe exactamente como o etanol afecta a libertação de dopamina mediada pelos receptores de glutamato.

Existem outros receptores sobre os quais o etanol actua e que podem levar à activação da libertação de dopamina, nomeadamente receptores de acetilcolina na VTA. Sabe-se que antagonistas destes receptores inibem a libertação de dopamina induzida pelo etanol, o que demonstra que a potenciação da actividade dos receptores nicotínicos pelo etanol contribui para o aumento da libertação de etanol (Spanangel, 2009) o que estará também relacionado com a associação entre o alcoolismo e o tabagismo. Sabe-se também que o etanol leva à libertação de opióides endógenos e de serotonina, neurotransmissores que serão, a par com a dopamina, responsáveis pela sensação de prazer e/ou euforia provocados pelo consumo de álcool (Spanangel, 2009).

Embora o sistema mesolímbico dopaminérgico seja importante no estabelecimento inicial do comportamento compulsivo, ele não é responsável pela sua manutenção, o que sugere o envolvimento doutros sistemas. Sabe-se que o desenvolvimento da compulsão por drogas, incluindo o etanol, envolve fenómenos de plasticidade sináptica desencadeados pela dopamina em conjunto com o glutamato. Em neurónios que recebem simultaneamente sinapses dopaminérgicas e glutamatérgicas, há aumento da expressão e tráfego para a membrana de determinados subtipos de receptores AMPA do glutamato que aumentam a força da transmissão sináptica, num processo semelhante ao da formação de memória, descrito anteriormente (secção 1.3.2). Deste modo, o processo de viciação em drogas é visto actualmente como um processo de aprendizagem/memória associado aos estímulos de recompensa.

1.4 – Adaptações do organismo aos efeitos do álcool: tolerância.

Após algum tempo de consumo crónico, o organismo desenvolve tolerância relativamente ao etanol, isto é, é necessário ingerir maiores quantidades de etanol para se obter os mesmos efeitos que os obtidos com a dose consumida inicialmente. Existem três

tipos de tolerância ao etanol: tolerância metabólica, neuronal e comportamental (Meyer e Quenzer, 2005).

A **tolerância metabólica** ocorre quando a quantidade de etanol disponível nos tecidos é reduzida devido a um aumento da sua taxa metabólica. O consumo crónico de etanol leva ao aumento da produção de enzimas ao nível do fígado, nomeadamente da álcool desidrogenase e de enzimas microsossomais da família do citocromo P450. Estas últimas são enzimas encontram-se no retículo endoplasmático liso das células do fígado e apresentam uma especificidade alargada, podendo metabolizar um elevado leque de compostos incluindo hormonas, fármacos e agentes tóxicos. Deste modo, aumenta a taxa metabólica do etanol, diminuindo a sua quantidade em circulação (figura 26) e por conseguinte os seus efeitos no organismo.

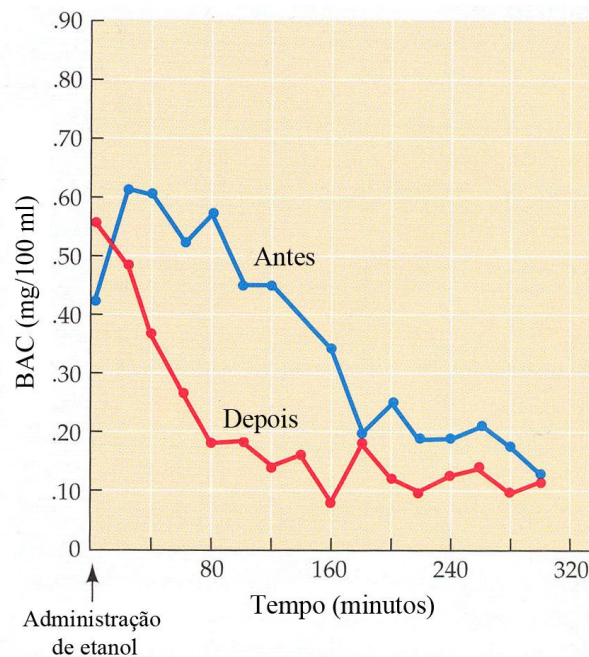


Figura 26 – Concentração de álcool no sangue medida após a administração de uma dose-teste antes e depois de um período de 7 dias de consumo crónico. A linha azul representa a BAC antes de 7 dias de consumo crónico, a linha vermelha representa a BAC depois do consumo crónico. A tolerância desenvolvida verifica-se pela diminuição mais rápida dos níveis de álcool no sangue quando comparado com o período pré-consumo crónico. (Adaptado de Meyer e Quenzer, 2005).

A **tolerância neuronal** ocorre quando há uma alteração no funcionamento dos neurónios no sentido de compensar a presença continuada do álcool. Verifica-se um aumento no número de receptores NMDA de glutamato, como resposta à sua actividade reduzida pela presença de etanol. Ao mesmo tempo, ocorre uma alteração ao nível dos receptores de GABA, que se tornam menos sensíveis à presença deste neurotransmissor, ou seja verifica-se uma redução do influxo de iões Cl^- mediado pelo GABA. Este último mecanismo compensa a potenciação inicial do efeito do GABA mediada pela presença de etanol.

A **tolerância comportamental** ocorre quando o indivíduo aprende a ajustar o seu comportamento de modo a conseguir compensar os efeitos físicos provocados pelo álcool.

Este tipo de adaptações contribuem no seu conjunto para compensar o efeito depressor que o álcool tem no SNC, e são responsáveis pela hiperexcitabilidade do organismo quando o consumo de álcool é interrompido. Embora facilite ao organismo tolerar a presença do etanol, contribui para o estabelecimento dos efeitos aversivos que surgem quando se verifica a privação ou abstinência, contribuindo grandemente para que se estabeleça a dependência física.

CAPÍTULO 2

MÉTODOS

2.1 – Animais

Foram usados murganhos (*Mus musculus*) da estirpe CD1, machos, com três a quatro meses de idade, com pesos entre os 23 e 30g. Os animais (fornecidos pela Charles River Laboratories, Spain) foram alojados em gaiolas aos pares, com acesso livre a comida e água. Os animais foram mantidos no Biotério da Universidade de Coimbra em condições controladas de temperatura e luminosidade, com um ciclo diário de 12h de luz / 12h de escuro.

Para permitir a identificação dos animais alojados na mesma gaiola, foi pintada a cauda a um deles com marcador de tinta permanente não alergénica. Depois de mudados das gaiolas originais para as gaiolas de teste, foi dado um período mínimo de 4 dias para adaptação às novas gaiolas antes da realização dos testes. As experiências foram realizadas numa sala escura, localizada numa zona silenciosa do edifício, na presença de uma luz vermelha. A sala de experimentação foi ligeiramente aquecida com antecedência, e os animais foram transportados para a mesma no mínimo 3h antes da realização dos testes.

2.2 – Teste de ingestão voluntária de etanol

Para testar se os murganhos ingeriam voluntariamente etanol e qual a concentração preferida, usaram-se 10 murganhos machos, colocados aos pares em 5 gaiolas. Em cada uma foram colocados à disposição dos animais 300g de ração e um ou dois biberões com 250ml de bebida (água acidificada, solução de sacarina a 0,066% ou solução de etanol), consoante o protocolo.

Durante o período de adaptação foi colocado nas gaiolas apenas um biberão com água acidificada (pH = 5.5). Quatro dias depois foram iniciados os testes, colocando-se à disposição dos animais dois biberões, um com água acidificada, o outro com uma solução de sacarina a 0,066% feita em água acidificada. A partir do décimo dia, o biberão com água foi substituído por um biberão com uma solução de etanol a 3%. Ao vigésimo quarto dia, a solução de etanol

foi substituída por outra de concentração superior (6%), e ao trigésimo oitavo dia essa solução foi ainda substituída por uma solução de etanol a 10%. Todas estas soluções foram feitas em água acidada e com sacarina a 0,066%, para mascarar o sabor desagradável do etanol. Durante o tempo total do teste (50 dias), foram efectuadas medições do peso dos animais, da quantidade de alimento consumida e volume de bebida ingerido de quatro em quatro dias.

2.3 – Teste da roda motora

Para testar a coordenação motora foi usada uma roda motora (Letica, modelo LI 8200). O aparelho consiste num cilindro com 3cm de diâmetro, estriado paralelamente ao eixo de rotação, onde encaixam divisórias também circulares, sendo controlado por um motor que permite controlar a velocidade em rpm (figura 27). Embora a roda tenha capacidade para cinco murganhos, apenas foram testados dois animais de cada vez, com duas divisórias de intervalo entre si, para facilitar a observação e controlo dos animais. Os murganhos foram colocados na roda de costas voltadas para o experimentador. A rotação inicial da roda era de 4rpm, aumentando de forma constante ao longo de 300seg até atingir a velocidade de 40rpm. Ao cair, os animais activavam uma alavanca que terminava a contagem do tempo correspondente àquela divisória. No caso do murganho não cair, era retirado ao fim de 300seg. Os ensaios foram espaçados entre si cerca de 2min. Cada sessão de testes consistiu em quatro ensaios. Entre cada ensaio, o local da roda utilizado era limpo com um pouco papel humedecido em água.

No dia anterior ao início de consumo de etanol cada animal foi sujeito a três sessões de treino, espaçadas entre si 3h, para adaptação à roda. Na fase de testes os animais foram separados em dois grupos: um grupo controlo, que tinha como bebida água acidificada, e o grupo de teste que tinha à disposição para beber uma solução de etanol a 10%, como já foi descrito anteriormente. Fizeram-se quatro sessões de testes, com quatro dias de intervalo.

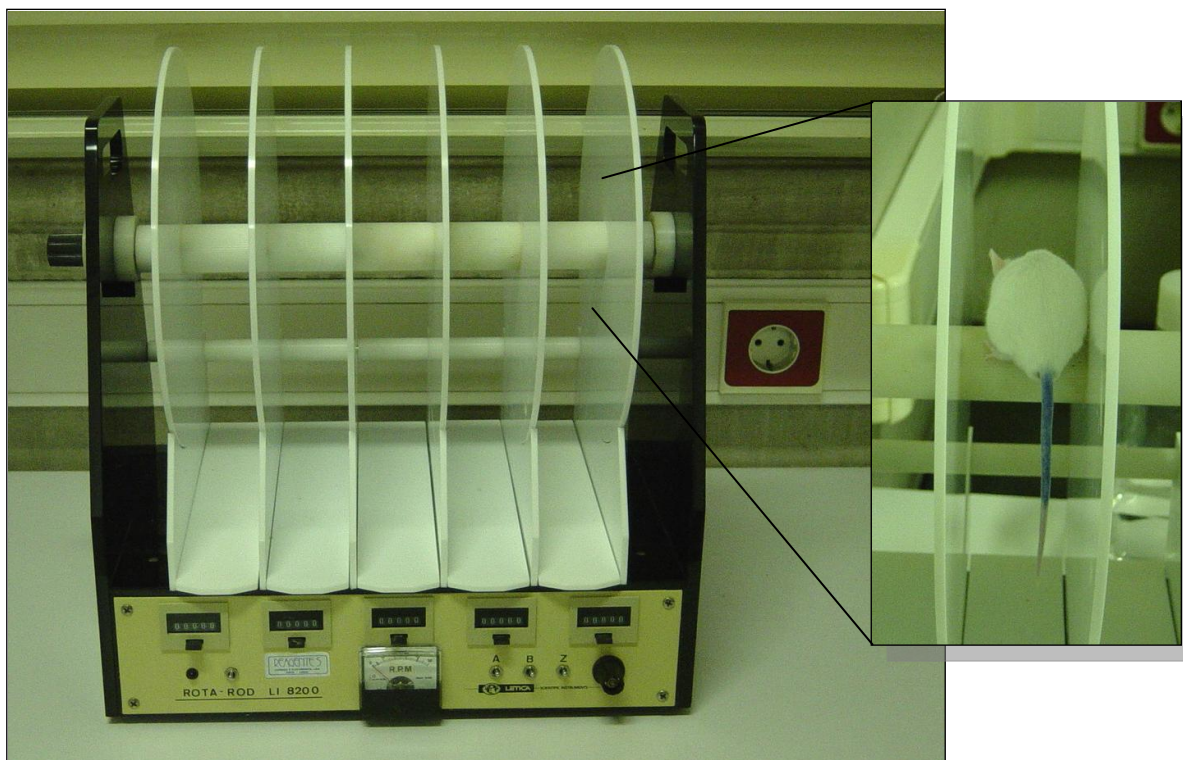


Figura 27 – Roda motora utilizada para os testes de coordenação motora. O cilindro sobre o qual os animais são colocados é estriado paralelamente ao eixo de rotação. Em cada divisória da roda os animais caem sobre uma alavanca que, quando pressionada, pára a contagem do tempo. O pormenor da figura mostra como os animais devem ser colocados.

2.4 – Testes de reconhecimento de dois objectos no campo aberto

Para testar a influência do etanol na capacidade de memorização e aprendizagem, foi usado o teste de reconhecimento de dois objectos no campo aberto em duas tentativas. Este teste baseia-se na curiosidade natural dos murganhos, que os leva a explorar tudo o que para eles é novo. Assim sendo, se os murganhos estiverem perante dois objectos, sendo um deles já conhecido, passarão mais tempo a explorar o que ainda não conhecem. A realização deste teste ao fim de 3h após a exposição ao primeiro objecto (objecto A) permite testar a memória a curto prazo, e a sua realização ao fim de 24h permite testar a memória a longo prazo.

No teste foi usada uma caixa de cartão de forma cúbica com 50cm de lado, com as paredes forradas com cartolinas vermelhas plastificadas, e o chão da caixa dividido em

quadrados iguais com 10cm de lado. Foram utilizados dois grupos de animais. Um grupo controlo, e um grupo de teste que foi sujeito a um consumo crónico de solução de etanol a 10% durante uma semana antes do teste de reconhecimento de objectos.

No primeiro dia, cada murganho foi colocado na caixa durante 20min para adaptação. No final desse tempo a caixa foi limpa com um pano humedecido em água para eliminar cheiros antes de lá ser colocado outro animal.

No teste de reconhecimento foram escolhidos dois objectos coloridos e com formas atractivas e pouco assustadoras para que os animais se sentissem atraídos para a exploração dos objectos. Por outro lado houve ainda o cuidado de escolher objectos suficientemente diferentes entre si para não serem confundidos. Os objectos escolhidos foram designados de “gato” e “toupeira”. A figura 28 mostra o material utilizado para a execução da experiência.

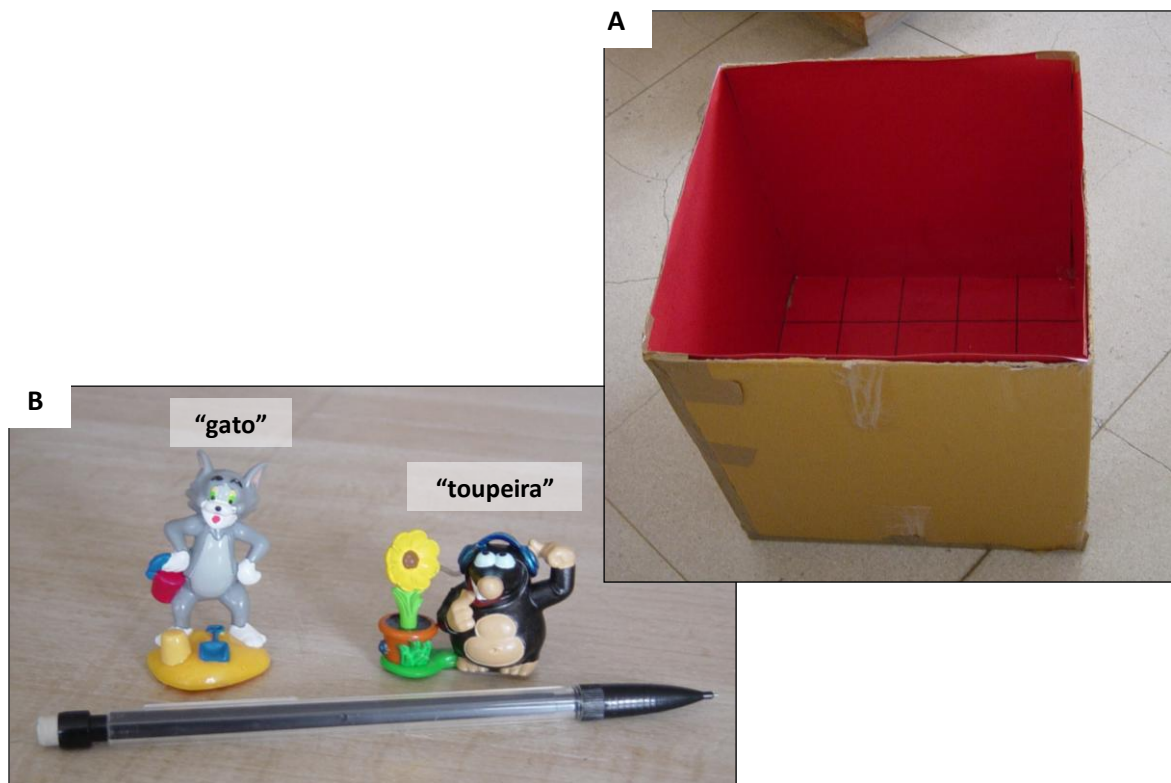


Figura 28 – Material usado para efectuar o teste de memória. A – Caixa onde decorreram os testes; os quadrados marcados no chão têm 10cm de lado. B – Objectos utilizados para o teste de reconhecimento. O lápis serve de escala.

Num primeiro ensaio foi apresentado ao animal em teste um objecto A, que para metade dos murganhos estudados foi o “gato” e para a outra metade a “toupeira”. Deste modo pretendeu-se verificar se existia preferência por algum objecto, excluindo no final dos estudos o facto de alguma diferença observada ser devida a esta preferência. Durante o teste o animal era colocado no centro da caixa durante 10 minutos, estando o objecto fixo ao fundo da mesma com “Bostik” (figura 29, esquemas A e B).

Numa segunda fase de teste, 3h e 24h depois, o animal era colocado na presença dos dois objectos em simultâneo (figura 29, esquema C). O ensaio realizado ao fim de 3h pretendia avaliar a capacidade de memória a curto prazo, e o ensaio realizado ao fim de 24h destinou-se à avaliação da capacidade de memória a longo prazo.

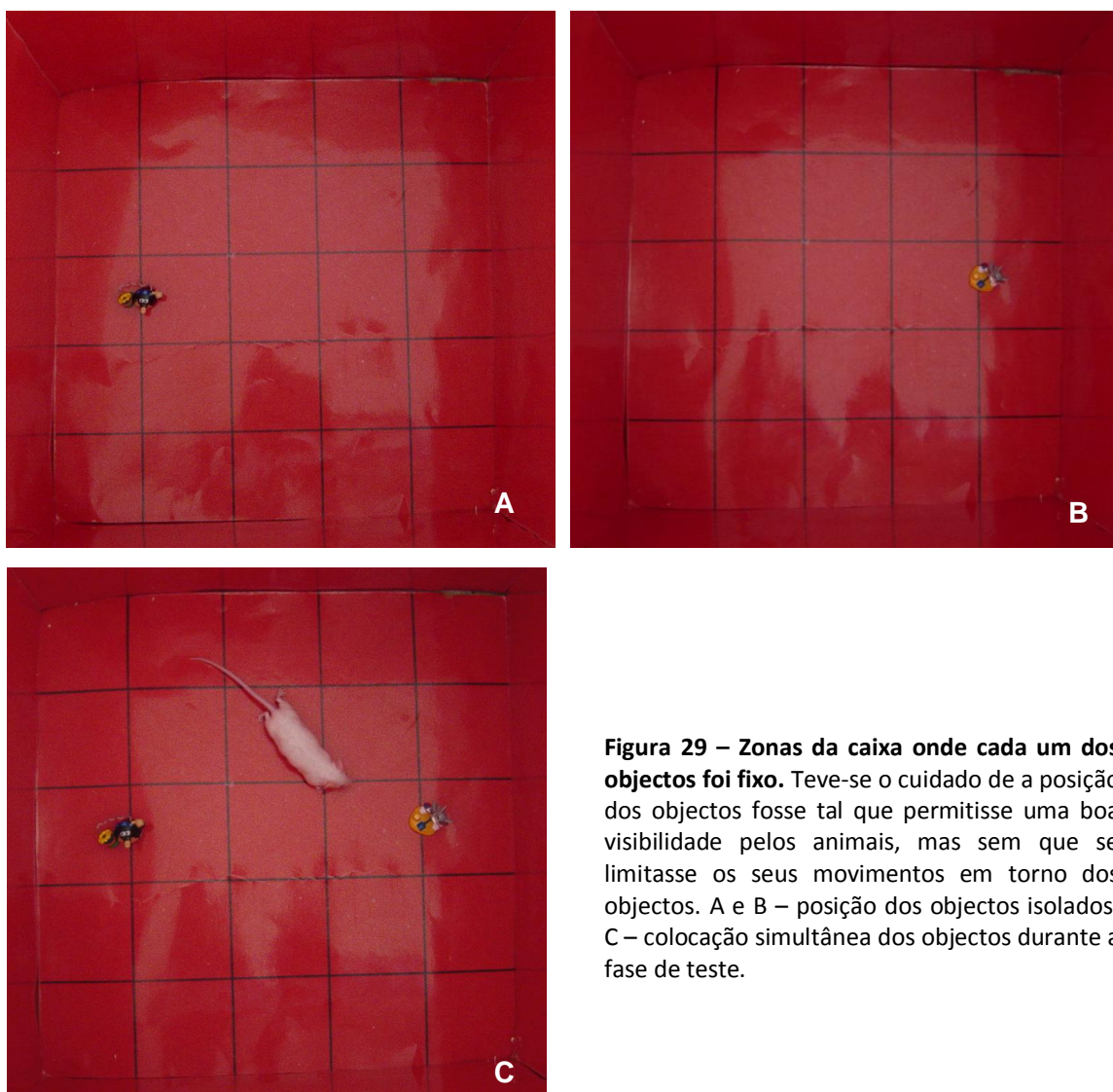


Figura 29 – Zonas da caixa onde cada um dos objectos foi fixo. Teve-se o cuidado de a posição dos objectos fosse tal que permitisse uma boa visibilidade pelos animais, mas sem que se limitasse os seus movimentos em torno dos objectos. A e B – posição dos objectos isolados. C – colocação simultânea dos objectos durante a fase de teste.

Durante os testes foi contabilizado o tempo de exploração de cada objecto, o número de quadrados atravessados e o número de elevações nas patas posteriores que cada animal efectuou. Quando os murganhos passavam junto dos objectos sem demonstrar interesse, mesmo tocando nos objectos, esse tempo não era contabilizado como tempo de exploração (figura 30).

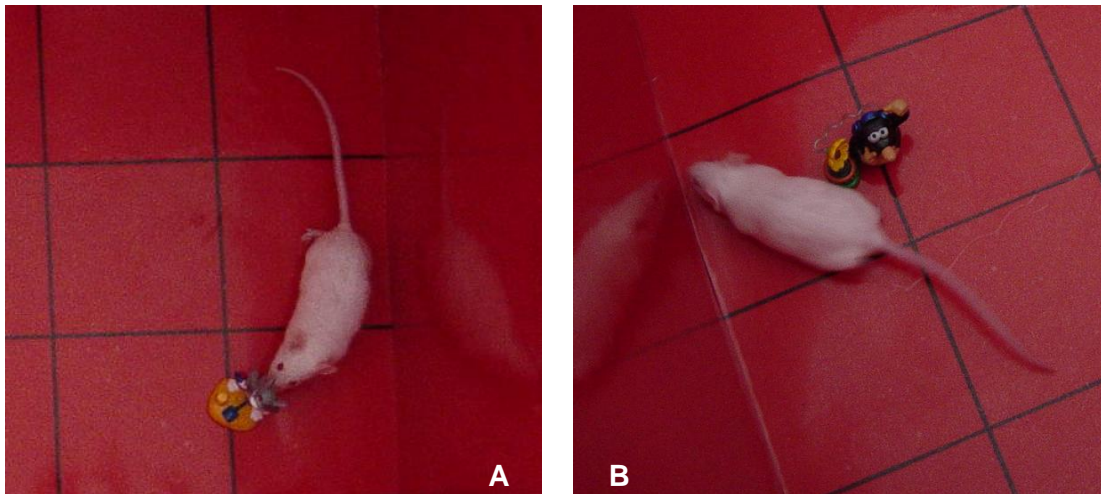


Figura 30 – Atitudes dos animais relativamente aos objectos. Só foi contabilizado como tempo de exploração quando os animais manifestavam interesse pelo objecto (A). Quando passavam na proximidade dos objectos sem interesse (B) esse tempo não foi contabilizado.

Para medir o índice de reconhecimento (IR) dos objectos foi utilizada a fórmula seguinte, em que t_A é o tempo dispendido a explorar o objecto A, e t_B é o tempo dispendido a explorar o objecto B.

$$\text{Índice de reconhecimento (IR)} = \left[\frac{t_B}{t_A + t_B} \right] \times 100$$

Considera-se que um animal se recorda do primeiro objecto apresentado se o valor do índice for superior a 50%. Se o valor foi inferior a 50% considera-se que o animal não se recorda do objecto. O esquema da figura 31 resume o protocolo descrito.

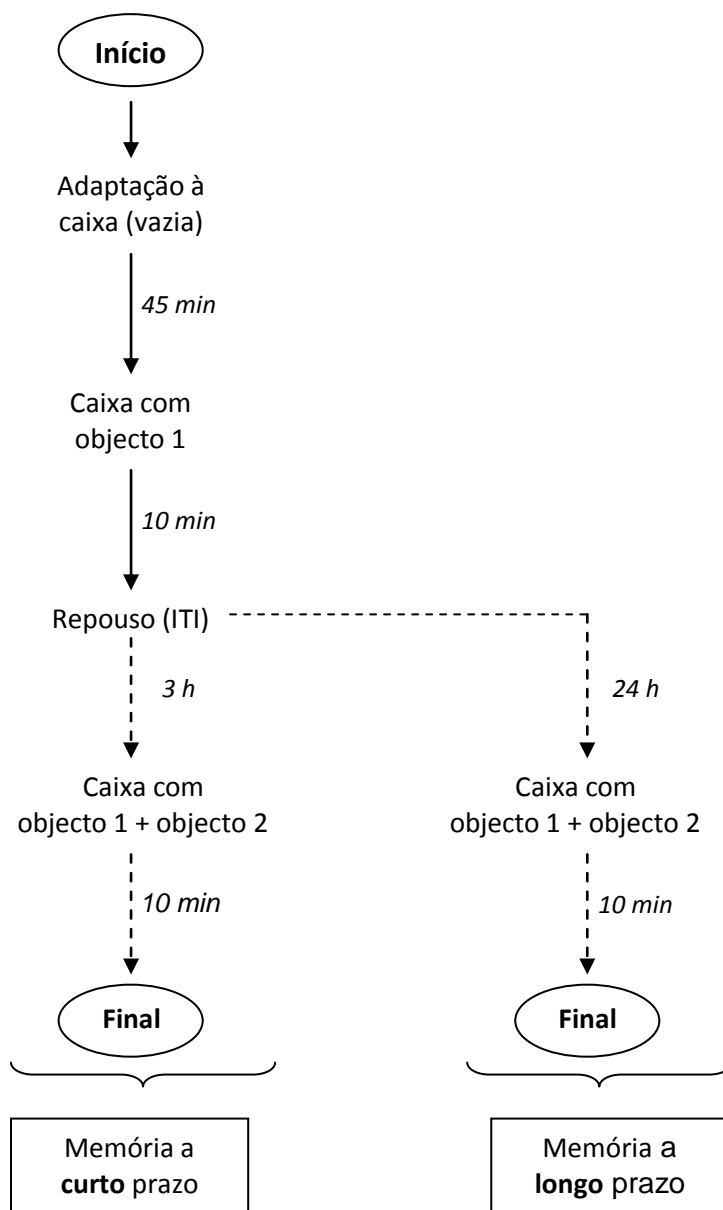


Figura 31 – Resumo do protocolo seguido para os testes de memória.

2.5 – Teste de Preferência Condicionada de Local

O Teste de Preferência Condicionada de Local permite testar o desenvolvimento de compulsão por uma droga. O acesso à droga é feito num determinado ambiente, pelo qual o animal mais tarde manifesta preferência relativamente a outro local que não associa a droga. O animal associa um determinado padrão a uma bebida.

Para a realização deste teste prepararam-se gaiolas com dois compartimentos comunicantes mas forrados de formas diferentes – cor cinza homogénea e riscas verticais de cor escura (figura 32). O teste é constituído por três fases: fase de pré-condicionamento, fase de condicionamento e fase de teste.

Na fase de pré-condicionamento testa-se se existe preferência por algum dos compartimentos. Assim, os animais foram colocados individualmente nas gaiolas com acesso livre aos dois compartimentos durante 20min. Foi registado o tempo passado em cada um dos compartimentos.

Durante a fase de condicionamento, foi fechada a passagem entre os compartimentos. Num conjunto de gaiolas, a água foi colocada no compartimento das riscas, e a solução de etanol a 10% foi colocada no compartimento cinzento. No outro conjunto, a bebida colocada no compartimento das riscas foi solução de etanol a 10%, e no compartimento cinzento foi colocada água. Durante esta fase, os animais passaram 48h em cada compartimento antes de serem mudados para o outro. Os animais estiveram três vezes em cada compartimento, perfazendo um total de 6 dias em cada um.

Na fase de testes foi concedido a cada animal acesso livre durante 20min aos dois compartimentos, depois de terem sido retirados os biberões e o alimento em cada um deles. Contou-se o tempo passado em cada compartimento. O protocolo encontra-se esquematicamente resumido na figura 33.

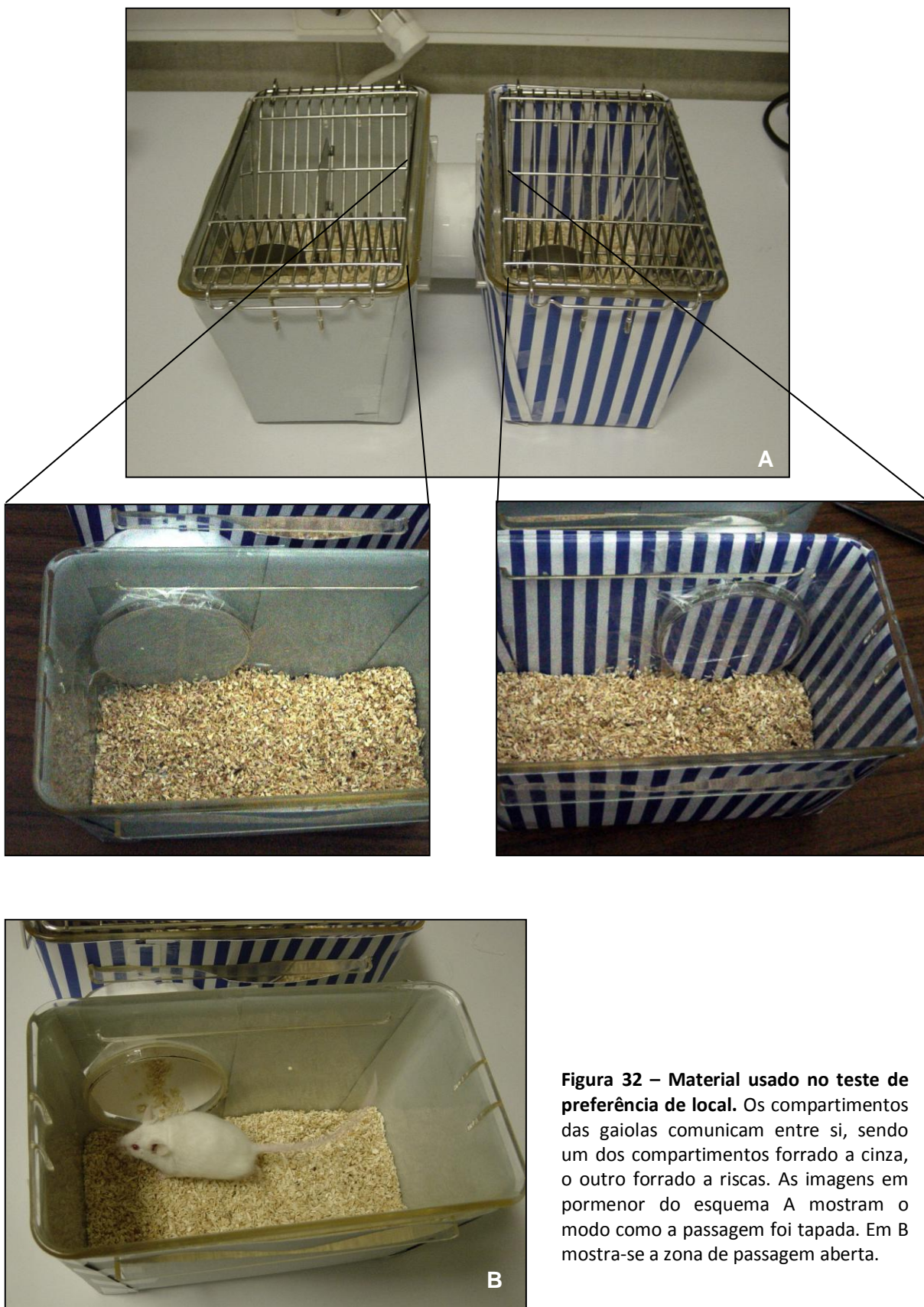


Figura 32 – Material usado no teste de preferência de local. Os compartimentos das gaiolas comunicam entre si, sendo um dos compartimentos forrado a cinza, o outro forrado a riscas. As imagens em pormenor do esquema A mostram o modo como a passagem foi tapada. Em B mostra-se a zona de passagem aberta.

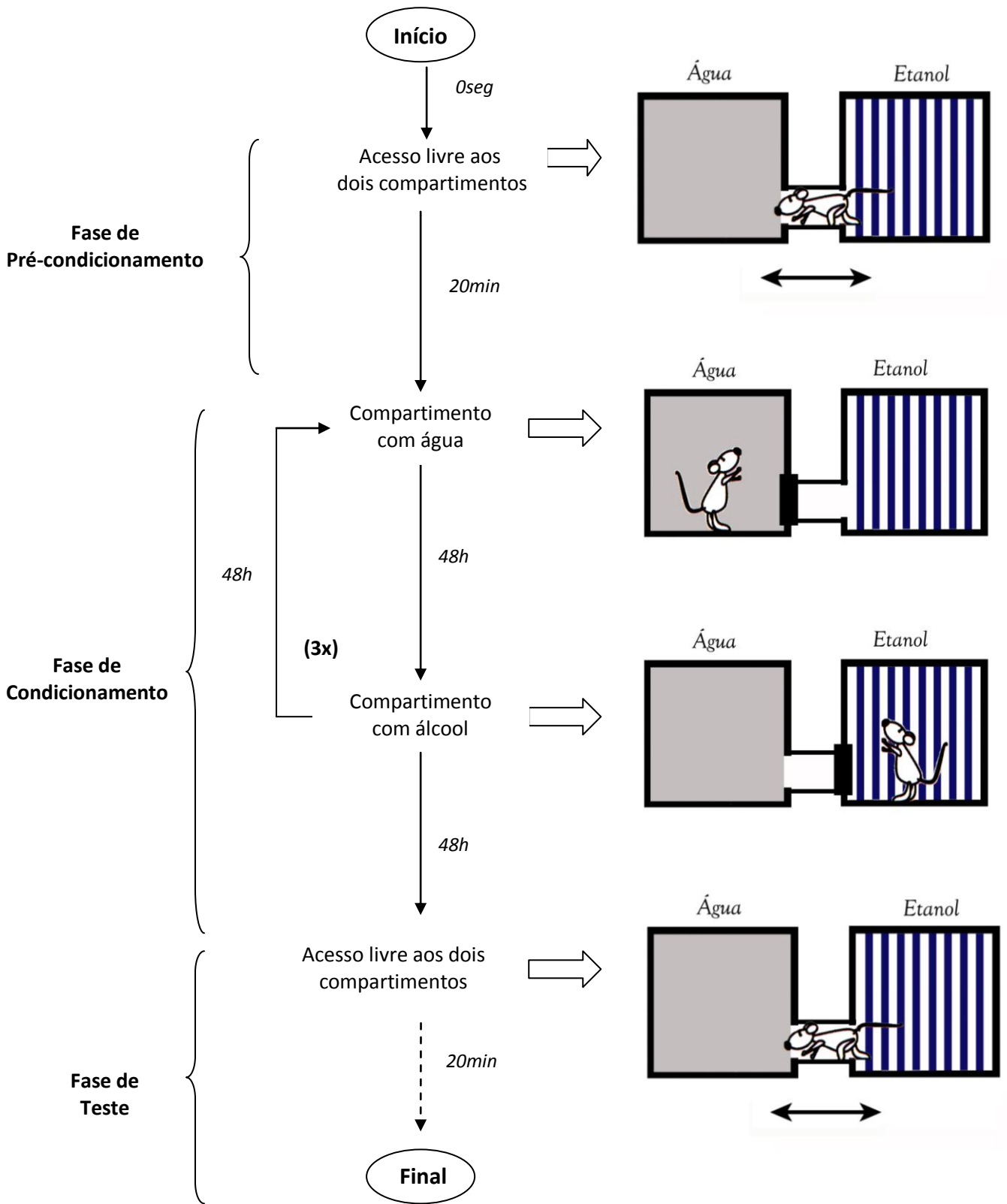


Figura 33 – Resumo do Teste de Preferência Condicionada de Local. O teste envolve apenas um animal de cada vez. A representação livre de dois animais no esquema simboliza a passagem livre que o animal tem para os dois compartimentos. A mudança descrita na fase de condicionamento ocorre três vezes.

2.6 – Análise estatística

Os resultados são apresentados sob a forma de média \pm erro padrão da média e foram estatisticamente tratados pelo teste t, ANOVA de uma via seguida do pós-teste de Bonferroni para as comparações múltiplas e ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni. Tal como indicado no texto ou nas legendas das figuras. Foram considerados significativos os valores de probabilidade inferior a 0,05.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 – Ingestão voluntária de etanol

Para testar se os murganhos ingeriam etanol e qual a concentração preferida, os animais foram mantidos ao longo de 50 dias em gaiolas com acesso a dois biberões com soluções diferentes: água, solução de sacarina a 0,066% ou soluções de concentrações crescentes de etanol feitas em sacarina a 0,066%, e mediu-se o consumo de cada líquido. Nos três primeiros dias de teste, os animais tiveram acesso apenas a água para consumo. A partir do momento em que foram colocados à disposição dos animais água e solução de sacarina, verificou-se uma preferência pela solução de sacarina relativamente à água (figura 34). Quando a solução alternativa à água foi a solução de etanol a 3%, a preferência dos murganhos foi inicialmente pela água, mas esta tendência alterou-se ao fim de alguns dias. A partir do momento em que isto aconteceu, embora com oscilações, verificou-se sempre uma preferência dos animais pela solução de etanol relativamente à água, mesmo com soluções de 6 e 10% de etanol.

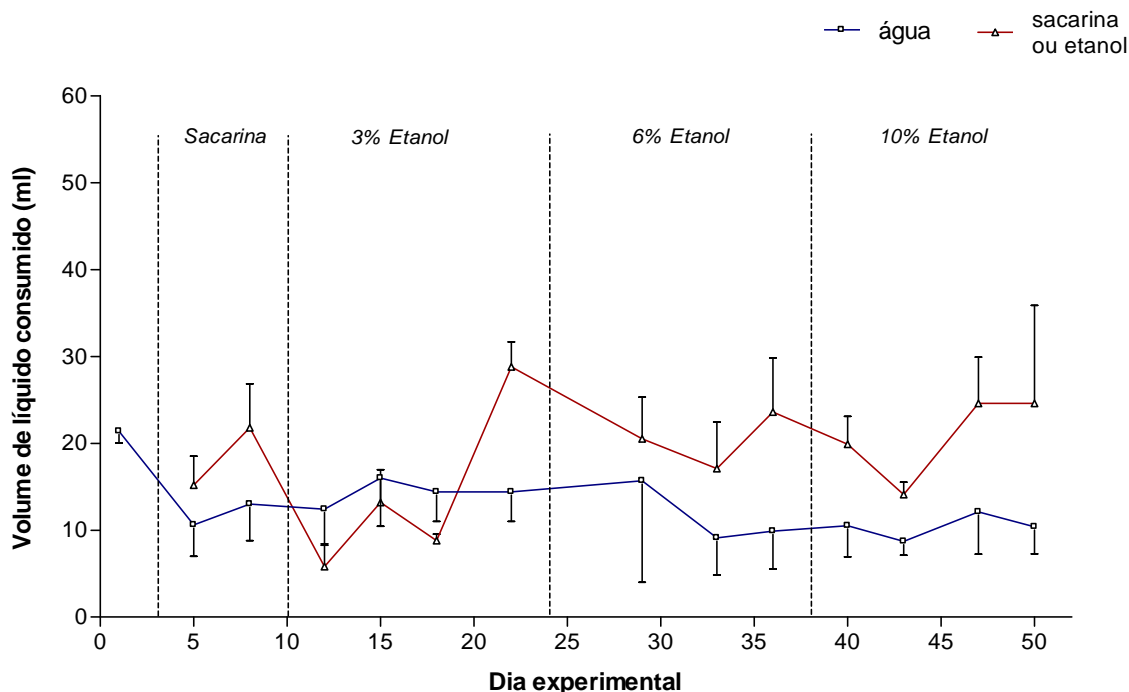


Figura 34 – Teste de ingestão voluntária de etanol. Os animais tinham possibilidade de escolha entre água e uma solução alternativa. Os valores correspondem às médias das determinações \pm SEM num total de pelo menos 10 animais por condição experimental.

No que respeita ao alimento ingerido pelos animais, verificaram-se algumas oscilações (figura 35), que não se reflectiram no peso dos animais, e com um aumento gradual ao longo do tempo. O período de maior irregularidade coincidiu com o período em que os ratinhos passaram a ter pela primeira vez contacto com a solução alcoólica (período de consumo de etanol a 3%). O maior aumento de peso registou-se entre os dias 12 e 18 (de 30,8g para 32,7g, em média), o que coincidiu também com um maior consumo de comida (de 14g para 19g, em média). Logo a seguir, até ao dia 22, o consumo de comida voltou a diminuir para valores médios de 15,3g, o que resultou também numa diminuição ligeira do peso corporal dos animais, que o recuperaram nos dias seguintes.

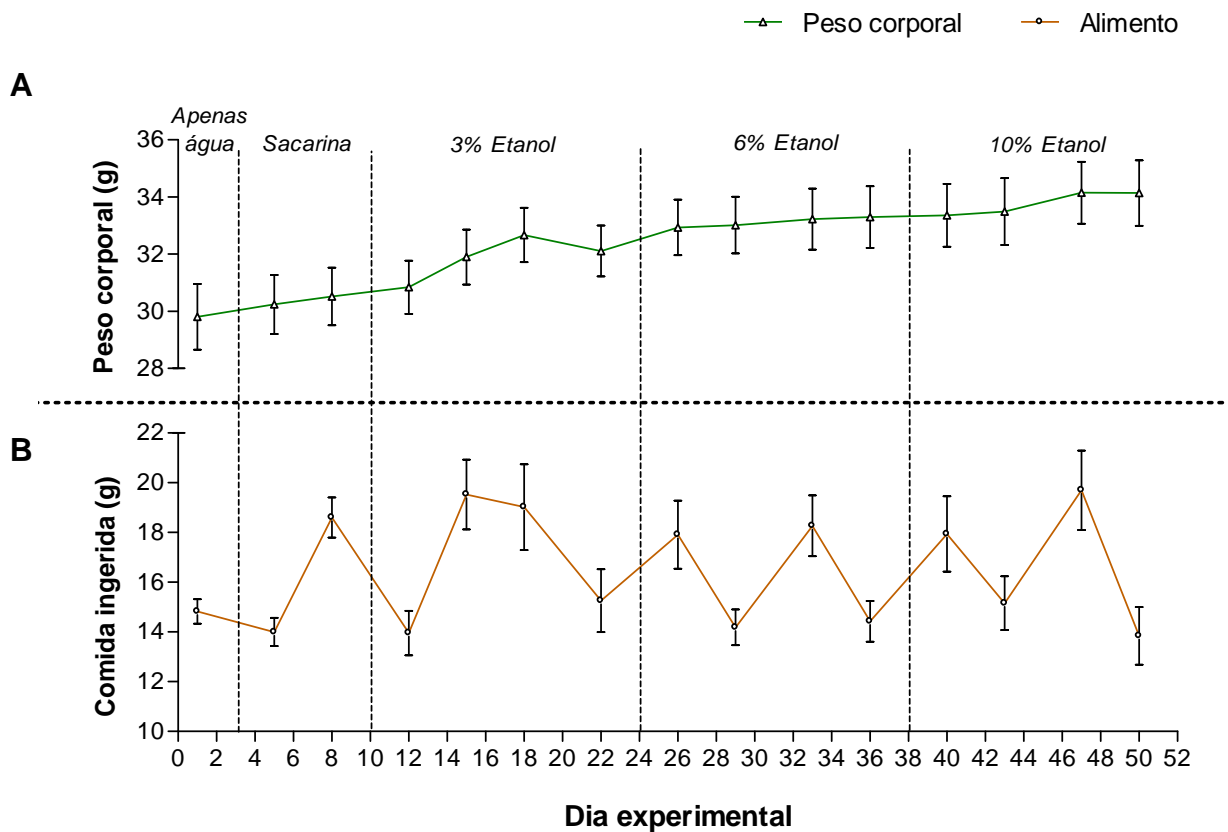


Figura 35 – Variação do peso corporal dos animais (A) e quantidade de alimento ingerida (B). Os valores correspondem às médias das determinações \pm SEM num total de pelo menos 10 animais por condição experimental.

3.2 – Efeitos do consumo de etanol na coordenação motora

A figura 36 mostra que os animais que consumiram etanol tiveram um desempenho inferior na roda motora em comparação com os animais que só tinham acesso a água. Antes do início do consumo de etanol (tempo 0) os animais foram submetidos a sessões de treino na roda motora para aprenderem a manter-se na roda em movimento. Verificou-se um aumento progressivo no tempo que os murganhos conseguiam passar na roda, não havendo diferença estatística entre os grupos de animais testados (controlo *versus* etanol). A partir do dia em que o grupo de teste inicia o consumo de etanol, o seu desempenho passa a ser significativamente inferior ao do grupo controlo (grupo de controlo: $195,19 \pm 14,75$ seg; grupo que consumiu etanol: $105,29 \pm 18,27$ seg; *** $P < 0,001$), sendo a diferença significativa ($P = 0,0006$). O grupo teste registou um decréscimo muito acentuado no tempo que conseguiram permanecer na roda, logo nos três primeiros dias após o consumo de etanol. Nos dias seguintes aumentaram o tempo de permanência na roda, não havendo diferença estatística entre os valores registados por estes animais e os dos animais do grupo controlo. Contudo, tendencialmente esses valores mantiveram-se inferiores aos tempos que os murganhos do grupo controlo conseguiram nos seus testes (figura 36).

3.3 – Efeitos do etanol na memória a curto e a longo prazo

Antes de se realizar o teste de memória (ensaio de reconhecimento de objectos) foram feitos vários controlos. No que diz respeito a cada um dos objectos apresentados, não se verificaram diferenças estatísticas significativas no tempo que os animais despenderam, em média, a explorar cada um dos objectos, não revelando deste modo preferência inicial por nenhum deles.

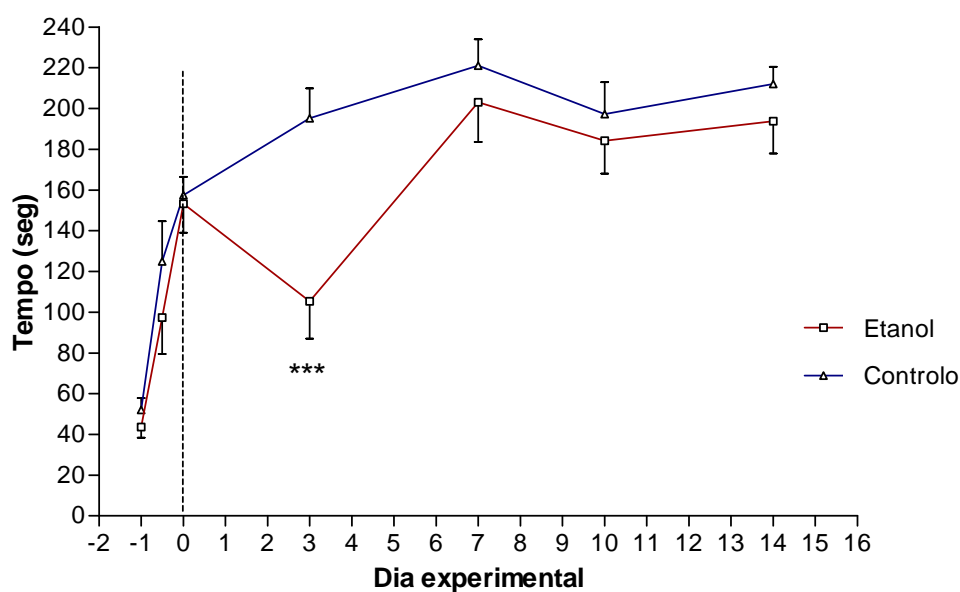


Figura 36 – Efeito do etanol no controlo motor avaliado em função do tempo passado na roda motora. Os três primeiros valores registados, identificados como -1, -0,5 e 0, correspondem à fase de treino. A partir do dia 0 os valores correspondem ao início do consumo da solução de etanol a 10%. Os valores correspondem às médias das determinações \pm SEM num total de pelo menos 10 animais por condição experimental. *** $P < 0.001$ – análise de variância ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni; estatisticamente diferente quando comparado com o grupo controlo no dia 3.

O tempo passado a explorar o objecto “gato” foi de $42,88 \pm 3,89$ seg e o objecto “toupeira” foi explorado em média $49,125 \pm 4,12$ seg (figura 37A). O tempo total de exploração dos objectos e o tempo passado a explorar cada um dos objectos em particular, permitiram concluir que os animais não tinham predilecção ou aversão por algum dos objectos. Quanto à exploração de objectos de um modo geral, embora também não se verificasse uma diferença estatística significativa ($P=0,055$), verificou-se uma tendência para que o grupo de animais sujeito ao consumo de etanol ocupasse mais tempo a explorar os objectos apresentados ($58,80 \pm 7,89$ seg) que o grupo de animais controlo ($39,20 \pm 3,75$ seg) (figura 37B).

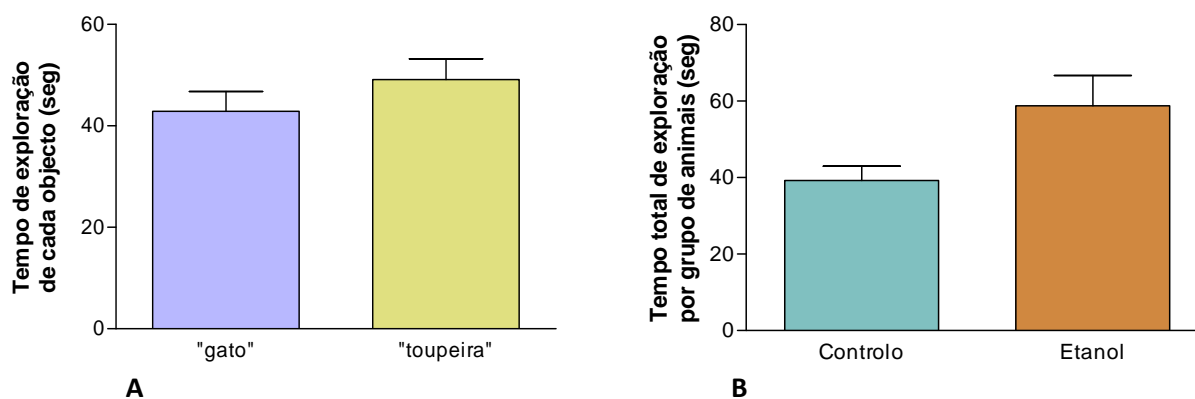


Figura 37 – Teste de preferência de objectos (A) e efeito do consumo de etanol no tempo total passado pelos animais a explorar os objectos (B). Os valores correspondem às médias das determinações \pm SEM num total de pelo menos 12 animais por condição experimental.

Foram também medidos outros parâmetros de actividade locomotora (elevações e quadrados percorridos) para verificar se o efeito do etanol em termos motores não afectou os resultados do ensaio de reconhecimento de objectos. Não se verificaram diferenças estatísticas significativas entre os dois grupos de animais testados relativamente à sua actividade locomotora, expressa no número de elevações nas patas traseiras e no número de quadrados percorridos. Os parâmetros tiveram o valor de $14,60 \pm 1,29$ elevações para o grupo de controlo e $18,80 \pm 3,97$ elevações para o grupo que consumiu etanol, e $324,80 \pm 28,17$ quadrados percorridos para o grupo de controlo e $319,4 \pm 21,55$ quadrados percorridos para o grupo que consumiu etanol (figura 38).

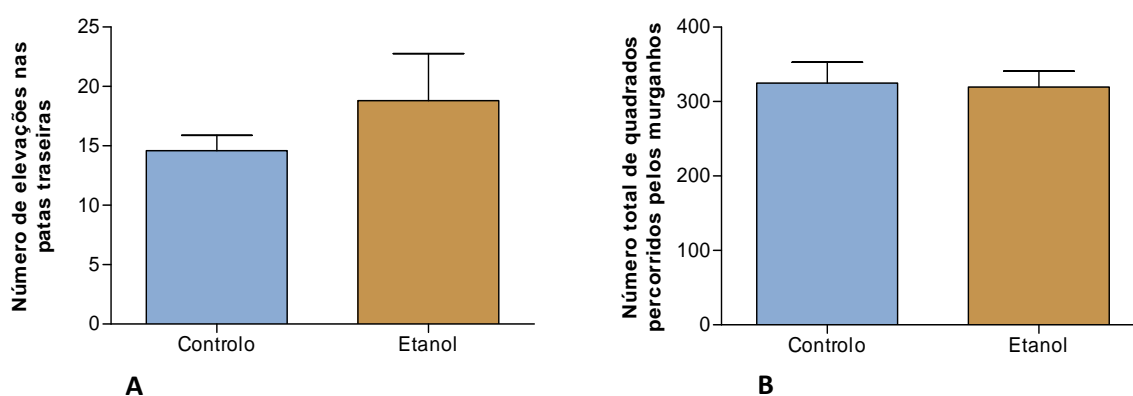


Figura 38 – Efeito do etanol nos parâmetros locomotores avaliados (A – número de elevações nas patas traseiras e B – número de quadrados percorridos) no teste de reconhecimento de objectos. Os valores correspondem às médias das determinações \pm SEM num total de pelo menos 12 animais por condição experimental.

O índice de reconhecimento permite expressar quantitativamente a memória que um animal tem de um objecto que lhe foi previamente apresentado relativamente a um objecto novo. Quanto mais próximo de 50% for este valor, menos o animal se recorda. Pelo contrário, quando os valores se aproximam de 100% significa que o animal se recorda do primeiro objecto que explorou e por isso passa mais tempo a explorar o objecto novo.

Embora com não se registassem diferenças estatísticas nos valores calculados entre o grupo controlo e o grupo que consumiu etanol, verificou-se uma tendência para que os valores de IR apresentados pelo grupo controlo nos dois testes (memória a curto e longo prazo) fossem superiores aos apresentados pelo grupo de animais que consumiu etanol. Tendo em conta os resultados obtidos apenas pelo grupo controlo, embora também não se registassem diferenças significativas entre o IR calculado após 3h e após 24h, verificou-se uma tendência para a sua diminuição 24h após a exploração do primeiro objecto (de $59,44 \pm 5,24\%$ para $55,47 \pm 1,35\%$) (figura 39).

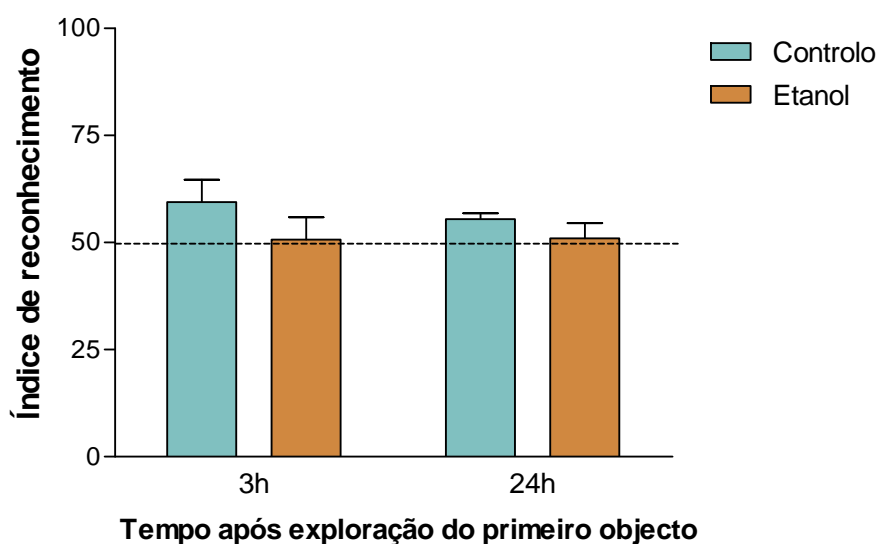


Figura 39 – Índice de reconhecimento. O valor do índice de reconhecimento foi medido duas vezes: 3 horas e 24 h após o contacto com o primeiro objecto. Os valores correspondem às médias das determinações \pm SEM num total de pelo menos 12 animais por condição experimental.

No caso do grupo que consumiu etanol, o valor do seu índice de reconhecimento é muito próximo de 50% nos dois testes efectuados (50,71±5,18% ao fim de 3h e 50,97±3,54% ao fim de 24h), o que indica que os animais não se recordam do objecto inicialmente explorado e por isso exploram de igual modo os dois objectos.

3.4 – Compulsão por etanol

No teste de preferência condicionada de local, na fase de pré-condicionamento não existiu diferença estatística significativa no tempo que os murganhos passaram, em média, em cada um dos compartimentos que tiveram à disposição. No compartimento com riscas passaram em média 598,25±19,14seg e no compartimento cinzento 601,75±19,14seg. Verificou-se deste modo que não existiu preferência prévia por nenhum dos padrões dos compartimentos, pelo que se pode concluir que qualquer diferença observada posteriormente na fase de teste foi devida apenas à associação ao consumo de álcool a que os animais foram sujeitos. Na fase de teste, os ratinhos passaram, em média, muito mais tempo no compartimento que durante a fase de condicionamento associaram ao etanol (847,00±43,24seg) do que no compartimento que associaram à água (353,00±43,24seg) (figura 40). A diferença estatística é relevante (**P<0,001), verificando-se deste modo uma clara compulsão pela procura do etanol, de tal modo que continuavam a procurar a bebida mesmo não estando esta presente.

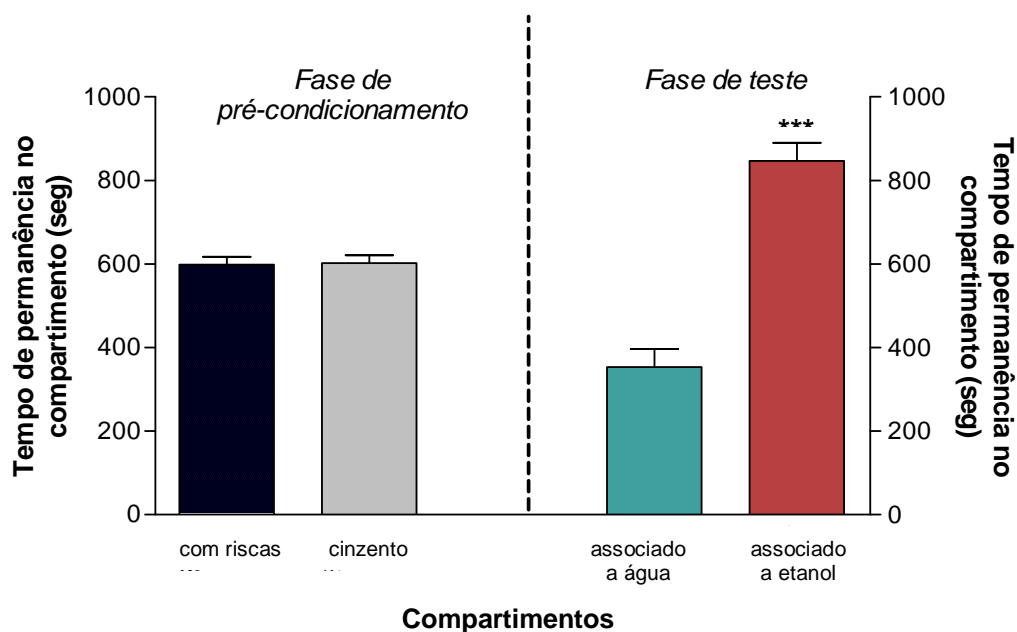


Figura 40 – Teste de preferência de local. Tempo passado pelos animais em cada compartimento durante a fase de pré-condicionamento e durante a fase de teste. Os valores correspondem às médias das determinações \pm SEM num total de pelo menos 10 animais por condição experimental. *** $P < 0,001$ – teste t; estatisticamente diferente quando comparado com o grupo “Água”.

CAPÍTULO 4

DISCUSSÃO

4.1 – Ingestão voluntária de etanol

A preferência inicial dos animais pela solução de sacarina face à água é muito provavelmente devida ao sabor doce daquela solução. A passagem para uma solução de etanol é uma mudança para um sabor menos agradável, o que justificará que entre os dias 10 e 19 os animais voltassem a manifestar preferência pela água. O grande aumento no consumo da solução de etanol que se registou a partir do dia 18 ter-se-á devido a uma habituação dos animais ao sabor da bebida e aos efeitos do álcool como droga que induz fenómenos de dependência, o que terá aumentado a compulsão.

Com o aumento da concentração de etanol para 6% e 10%, o sabor torna-se ainda mais intenso e, supostamente, menos agradável. Provavelmente sempre que houve um aumento na concentração da solução de etanol, seja para 6%, seja para 10%, o consumo sofreu um ligeiro decréscimo, para depois voltar a aumentar, devido à habituação e compulsão que já foi referida.

Optou-se assim por utilizar nas actividades experimentais seguintes a solução de etanol a 10%, pois os animais manifestaram uma clara preferência desta solução relativamente à água. Deste modo, assegura-se que os animais consumirão sempre a bebida alcoólica que lhes for colocada à disposição, e assim sendo o consumo voluntário por parte dos animais aproxima-se do que acontece em contexto real de vida. Ao mesmo tempo, uma concentração mais elevada implica também efeitos mais rápidos e mais evidentes ao nível do organismo, o que facilita a observação de resultados. O valor escolhido é semelhante ao utilizado por autores como Nielsen *et al.* (1999) e Bailey *et al.* (2000), que usaram nos seus trabalhos soluções de etanol a 8% e 12%, respectivamente.

No que respeita aos parâmetros de controlo medidos, nomeadamente a variação de peso corporal e quantidade de comida ingerida, não se verificou qualquer anomalia indicativa de mau estar nos animais.

4.2 – Efeitos do etanol na coordenação motora

Os resultados obtidos mostram que a ingestão de etanol provoca de facto uma diminuição no controlo motor dos animais, evidenciada pelas diferenças de desempenho dos dois grupos de animais testados na roda motora. Estes resultados vêm de encontro ao que já foi verificado em trabalhos realizados por outros autores como Pallarès *et al.* (2001), Rustay *et al.* (2003) e Servais *et al.* (2005).

Durante a fase de treino, antes do início do consumo crónico da solução de etanol, verificou-se um aumento do desempenho de todos os animais de uma forma muito semelhante. Estes resultados demonstram uma aprendizagem por parte dos animais relativamente à forma de movimentação e equilíbrio na roda. Autores como Rustay *et al.* (2003) consideram importante que esta fase de treino se prolongue até se verificar uma estabilização no desempenho máximo dos animais para que se possa ter a certeza de que um aumento de desempenho não se deva a uma maior aprendizagem, mas sim ao efeito provocado pela substância em estudo. No entanto, outros autores publicaram vários estudos usando o presente protocolo (é o caso, por exemplo, de Jones *et al.*, 2008). Na realidade, com esta metodologia foi possível comprovar claramente que a ingestão de etanol induz uma redução significativa na capacidade de coordenação motora, conforme demonstrado pelo grupo de animais sujeito a consumo crónico da solução de etanol, cujo desempenho no primeiro teste foi ainda inferior ao da última sessão de treino que haviam realizado.

Após esta primeira redução no tempo de permanência na roda, os animais sujeitos a consumo de etanol demonstraram uma melhoria no seu desempenho a partir do segundo teste. Pallarès *et al.* (2001) associam esta tendência ao desenvolvimento, por parte do organismo dos animais, a uma tolerância relativamente aos efeitos sedativos do álcool, embora também refiram que continua a existir aprendizagem por parte dos animais que lhes permite adaptar-se melhor à roda, tal como aconteceu durante a fase de treino (também

discutido por Servais *et al.*, 2005). Eventualmente os animais poderão ter desenvolvido mecanismos de tolerância que lhes permitiram adaptar-se aos efeitos do etanol e superar as dificuldades de equilíbrio e coordenação de movimentos.

A descoordenação motora induzida pelo etanol é devida sobretudo à sua acção sobre os receptores dos neurotransmissores envolvidos nos circuitos neuronais responsáveis pelo movimento, nomeadamente o glutamato (utilizado pelos neurónios superiores do tracto corticospinal e do cerebelo) e o GABA (utilizado nos circuitos do cerebelo e gânglios basais). Uma vez que as estruturas envolvidas na coordenação ao nível do SNC possuem receptores para estes neurotransmissores, qualquer interferência na transmissão do impulso nervoso ao nível destas estruturas irá obrigatoriamente resultar num movimento descoordenado. A única via de saída de informação a partir do cerebelo é através das células de Purkinje. Nos seus trabalhos, Servais *et al.* (2003) demonstraram que o etanol reduz a actividade das células de Purkinje, o que comprometerá assim a integração da informação sensorial e promoção das correcções necessárias para a ocorrência normal do movimento, originando-se deste modo um movimento descoordenado que leva os animais a perder o equilíbrio e a cair da roda.

4.3. – Efeitos do etanol na memória a curto e a longo prazo

Os resultados obtidos demonstram que os animais sujeitos a consumo de álcool não se recordam tão bem comparativamente aos animais controlo do primeiro objecto que lhes foi apresentado, nem no teste para a memória a curto prazo nem no teste para a memória a longo prazo, embora sem diferença estatística significativa. Talvez o tempo de exposição ao objecto não tivesse sido o suficiente, ou então o tempo até à realização do teste fosse demasiado longo, ajudando assim a um maior esquecimento. Esperava-se que pelo menos no teste de memória a curto prazo o valor do IR fosse significativamente diferente entre os grupos controlo e etanol. Se os animais depois de 3h já não têm uma recordação consistente do primeiro objecto, então após 24h a sua capacidade de reconhecimento ainda será inferior.

Embora os animais controlo também não apresentem valores muito elevados, os valores de IR ligeiramente superiores ao grupo etanol sugerem que após 3 h se recordam melhor do objecto, havendo no entanto uma diminuição no valor calculado para o índice de reconhecimento 24h após a exploração do primeiro objecto. Como se passou mais tempo, terá havido esquecimento.

Foram também calculados alguns parâmetros de controlo fundamentais para uma melhor interpretação dos resultados. No que respeita aos objectos utilizados, não se verificaram preferências significativas por nenhum em especial, o que reduz o efeito produzido por eventuais características dos objectos que atraíssem mais os animais ou, pelo contrário, os assustasse e por isso os impedisse de explorar (mesmo não se recordando do objecto). Embora o objecto “toupeira” tenha sido ligeiramente mais explorado que o objecto “gato”, para além da diferença não ser significativa, a pouca que houve foi minimizada pelo facto de metade dos animais ter a “toupeira” como objecto A e a outra metade ter o “gato” como objecto A.

Os parâmetros locomotores avaliados permitiram inferir que as diferenças registadas no tempo de exploração dos objectos não eram devidas a diferenças de actividade locomotoras nos animais. Por exemplo, um animal que manifeste uma actividade locomotora reduzida em principio passará menos tempo a explorar os objectos do que um animal mais activo, independentemente do quanto se recordam ou não dos objectos. Por outro lado, um animal com uma actividade locomotora muito elevada (hiperactividade) poderá explorar mais o segundo objecto, não por se recordar do primeiro objecto mas por ocasionalmente tocar de frente no objecto novo devido à sua elevada actividade. Em qualquer um dos casos devemos excluir esses animais, embora no nosso estudo não tenha ocorrido qualquer diferença significativa entre os animais controlo e etanol.

Relativamente ao tempo total de exploração dos objectos verificou-se que os animais sujeitos a consumo crónico de solução de etanol a 10% apresentam valores superiores ao dos animais de controlo. Isto significa que um valor mais reduzido de índice de reconhecimento

não foi devido a uma menor exploração dos objectos. Como não se recordavam do primeiro objecto apresentado, passavam mais tempo a explorar os objectos apresentados, pois era como se fossem na realidade dois objectos novos. Assim sendo, apenas o etanol surge como explicação possível para as diferenças registadas entre os grupos de animais, podendo por isso verificar-se que de facto o álcool interfere na capacidade de memorização dos indivíduos, quer no que diz respeito à capacidade de memória a curto prazo, quer no que concerne à memória a longo prazo.

Em algumas estruturas envolvidas na formação de memórias e relacionadas com a aprendizagem, existem receptores com os quais o etanol interfere directamente, nomeadamente receptores de glutamato. É o caso do hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal. É sobretudo ao nível do hipocampo que ocorre um mecanismo de plasticidade sináptica associado à formação de novas memórias, a potenciação de longa duração. O etanol ingerido, ao chegar a estas estruturas através da corrente sanguínea, inibe os receptores NMDA de glutamato, impedindo as alterações sinápticas envolvidas na formação de novas memórias.

4.4 – Compulsão por etanol

Os resultados obtidos na fase de teste vêm confirmar que os animais apresentam viciação induzida pelo álcool, uma vez que passam muito mais tempo no compartimento associado ao álcool do que no compartimento associado à água, mesmo sem estarem bebidas presentes. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Cunningham, *et al.* (2000) para murganhos de estirpe “selvagem” (i.e., não modificados geneticamente) e com os resultados referidos por Chester e Cunningham (2002).

De acordo com Cunningham e colaboradores (2000), animais sem receptores para a dopamina não manifestam preferência por qualquer dos compartimentos para os quais foram condicionados o que, em conjunto com os trabalhos de Diana (1993) e Di Chiara e Imperato

(1998), vem reforçar a importância do incremento de dopamina no núcleo accumbens (induzida pelo etanol) na activação do mecanismo de recompensa que induz a viciação. Os estudos referidos por Chester e Cunningham (2002) confirmam que na activação do mecanismo de recompensa por parte do etanol a sua acção sobre o GABA também é importante para que ocorra a viciação dos consumidores (neste caso os animais utilizados no teste).

CAPÍTULO 5

CONCLUSÃO

Neste trabalho realizaram-se testes comportamentais para demonstrar alguns efeitos do etanol ao nível do sistema nervoso.

O teste da roda motora permitiu demonstrar que o etanol interfere com a capacidade de coordenação de movimentos, levando os animais sujeitos a consumo crónico a manifestar défice de coordenação motora.

Os efeitos ao nível da memória foram observados no teste de reconhecimento de dois objectos. Os resultados deste teste mostram uma tendência na redução da capacidade de aquisição de memórias após o consumo de etanol a curto prazo, relativamente ao grupo controlo. Apesar de os murganhos não terem uma capacidade de memorização muito grande, ainda assim foi possível observar alguma capacidade de reconhecimento do primeiro objecto nos animais que não consumiram etanol.

Os resultados obtidos com o teste de preferência condicionada de local vieram comprovar inequivocamente que o álcool induz viciação e procura compulsiva pela bebida, mesmo quando esta não se encontra disponível. Tudo isto foi notoriamente visível pelo aumento de tempo passado no compartimento associado ao álcool comparativamente ao tempo dispendido na exploração do compartimento associado à água.

Os testes realizados permitiram a obtenção de resultados claros e compatíveis com os esperados para os efeitos do etanol ao nível do SNC, e como tal prevê-se que a sua realização e discussão são possíveis de concretizar sem grande dificuldade em contexto escolar.

PARTE II – COMPONENTE PEDAGÓGICA

CAPÍTULO 6

**IMPORTÂNCIA DAS ACTIVIDADES PROPOSTAS NO ENSINO
DAS CIÊNCIAS AO NÍVEL DO 3º CICLO DO ENSINO BÁSICO E
ENSINO SECUNDÁRIO**

No nosso dia a dia está cada vez mais presente a ciência e a tecnologia, pelo que torna a familiarização com os seus aspectos essenciais indispensáveis ao exercício da cidadania, para a qual devemos preparar os nossos alunos.

Nas disciplinas de ciências surge, por essa razão, a grande preocupação em relacionar e estabelecer uma contínua interação entre a ciência, a tecnologia e a sociedade. Novas orientações têm surgido, nomeadamente na revisão curricular quer do Ensino Básico, quer do Ensino Secundário, passando o trabalho experimental a ter uma ênfase especial, muitas vezes aparecendo a expressão “obrigatoriedade do ensino experimental nas ciências”. Deste modo, o trabalho experimental deverá ser uma parte essencial das actividades dos alunos nas disciplinas de ciências. É importante promover o contacto das crianças, desde muito cedo com conceitos básicos de Ciência, de forma a desenvolver as suas competências científicas, promover o desenvolvimento do raciocínio, do pensamento crítico, da auto-aprendizagem, e da capacidade de resolver problemas. No entanto, é de referir que estas competências devem ser desenvolvidas ao longo da escolaridade.

Por exemplo, de acordo com o relatório do PISA 2006, embora o desempenho médio global dos alunos portugueses a literacia científica tenha evoluído positivamente desde 2000, continuam a exibir resultados modestos – quando comparados com a média dos países da OCDE. Mas o contributo dos vários anos de escolaridade não é semelhante. De acordo com este documento os alunos, embora os alunos dos 10º e 11º anos revelam desempenhos muito acima dessa média, os alunos do 7º, 8º e 9º anos revelam níveis de literacia e desempenho bastante medíocres quando comparados com a média dos restantes países. Daí a importância deste tipo de trabalhos. A promoção do trabalho experimental, com recurso a temas do quotidiano e próximos dos alunos ajuda a estimular e a desenvolver não só o interesse pelas ciências experimentais, mas sobretudo a desenvolver competências no manuseamento de

material de laboratório, ao nível do raciocínio científico, da análise e interpretação de dados, para que possam depois formular hipóteses e chegar a conclusões de forma autónoma.

No entanto, é de referir que apesar de todas as novas orientações em torno dos currículos se dirigirem aos alunos, é aos professores que cabe a responsabilidade da sua implementação, assim como, de inovar e mudar a qualidade do acto educativo. É necessário que os professores possuam conhecimentos, disposição, possibilidade para reflectir as finalidades do currículo. A primeira parte deste trabalho teve a finalidade de fornecer aos professores a informação já seleccionada e compilada sobre o tema que lhes permitam ter os conhecimentos científicos necessários para orientar com confiança o trabalho dos seus alunos. Nesta segunda parte serão fornecidos protocolos experimentais, prontos a ser fotocopiados e entregues aos alunos, bem como um conjunto de sugestões de orientação do trabalho dos alunos por forma a facilitar a implementação deste conjunto de actividades.

Uma questão pertinente é a que se relaciona com o modo de implementação deste tipo de protocolos, e a que tipo de alunos se pode destinar. O tema deste trabalho, tendo o alcoolismo como centro, enquadra-se perfeitamente nas disciplinas de educação cívica de qualquer ano do terceiro ciclo, embora podendo ter uma especial importância no 9º ano de escolaridade, que inclui no seu currículo da disciplina de Ciências Naturais temas como “Saúde individual e comunitária”, no qual se prevê que os alunos sejam capazes, entre outras coisas, de propor e implementar medidas de promoção da saúde. O último capítulo do currículo do 9º ano é “Opções que interferem no equilíbrio do organismo (tabaco, álcool, higiene, droga, actividade física, alimentação)”, onde se pretende que, entre outras coisas, os alunos conheçam alguns dos efeitos que o álcool pode ter sobre o organismo. Acresce ainda a forte componente deste trabalho associado à fisiologia do Sistema Nervoso, que também faz parte do currículo da disciplina. Assim, este trabalho pode também ser implementado como um complemento ao currículo da disciplina de Ciências Naturais, em contexto de sala de aula, ou

então na área curricular não disciplinar de Área Projecto, desde que seja orientada pelo professor de Ciências Naturais, em articulação com os conteúdos da disciplina.

Ao nível do ensino secundário, fazem parte do currículo da disciplina de Biologia e Geologia, na unidade 4 de Biologia – “Regulação nervosa e hormonal” alguns conceitos sobre fisiologia do Sistema Nervoso, onde este trabalho também se poderá inserir. Também na disciplina de Biologia Humana para os cursos tecnológicos de Desporto se prevê, na unidade 8 do programa (desenvolvida no 11º ano de escolaridade), que os alunos tenham conhecimentos sobre o funcionamento do Sistema Nervoso. Neste caso particular este tipo de actividades pode ser um factor muito importante na motivação destes alunos para a disciplina. No caso do 12º ano de escolaridade, este trabalho pode ser um recurso precioso para a disciplina de Área Projecto. As orientações curriculares prevêem para esta disciplina que ao longo do ano os alunos desenvolvam um projecto relacionado com as suas aspirações profissionais futuras. Este trabalho pode ser uma base pronta a ser explorada e até amplificada pelos alunos nesta disciplina.

Como se vê, este trabalho tem toda a pertinência no que respeita à sua aplicação em escolas. Contudo, é necessário que as escolas estejam dispostas a apoiar os professores que decidam implementar estas actividades com os seus alunos, nomeadamente no que respeita à disponibilização de instalações onde a actividade possa decorrer.

CAPÍTULO 7

APLICAÇÃO DAS ACTIVIDADES EXPERIMENTAIS

PROPOSTAS NAS ACTIVIDADES ESCOLARES

7.1 – A vantagem de utilizar modelos animais

Embora a utilização de animais em testes de laboratório possa levantar uma série de questões, ela permite aos investigadores utilizar métodos que não seria ético utilizar em humanos pelo risco que envolvem para a saúde ou pelas consequências que podem ter para o organismo. É o caso da pesquisa relacionada com drogas de abuso, entre outras.

A escolha da espécie a utilizar é muito importante, para que os resultados se aproximem o mais possível do que se passa num organismo humano. Como tal, seria de esperar que animais mais próximos filogeneticamente do ser humano, os primatas, constituíssem a escolha principal dos cientistas. No entanto, este tipo de pesquisa é muito dispendiosa e os animais difíceis de manusear (Tabakoff e Hoffman, 2000). Os ratinhos, ou murganhos, são frequentemente utilizados em laboratório, uma vez que partilham com o ser humano uma série de características quer a nível fisiológico, como anatómico, celular e molecular. Para além disso, apresentam também algumas funções cerebrais idênticas às humanas, tais como ansiedade, fome, ritmos circadianos, memória, entre outras (Meer e Raber, 2005). No caso específico deste trabalho, optou-se pelos murganhos pois para além de todas estas características, as suas pequenas dimensões permitem um mais fácil manuseamento por parte dos alunos. Para além disso, necessitam de menos espaço para acomodação que os ratos.

Este trabalho foi baseado em testes de comportamento, que pela sua natureza, são altamente influenciáveis pelo estado de *stress* em que os animais se encontram. Torna-se assim muito importante assegurar que as condições em que os animais são mantidos durante o tempo em que decorrem as experiências sejam de tal modo que os animais se encontrem o mais calmos possível. Deste modo, também será mais fácil aos animais adaptarem-se às novas condições que lhe são apresentadas durante a fase de experimentação (Havenaar *et al.*, 2001).

Existem vários documentos aprovados internacionalmente que regulam a forma como os animais devem ser tratados e acomodados no laboratório e durante as fases de testes a que são sujeitos, como é o caso do *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*, publicado pela National Academy Press (Estados Unidos) ou as Linhas de Orientação para o Cuidado e Acomodação de Animais aprovadas pelo Conselho da Europa. São estes os documentos que iremos usar como base para este capítulo. Os animais utilizados neste trabalho são murganhos, pertencentes à espécie *Mus musculus* e todas as indicações referidas neste trabalho serão relativas a estes animais.

7.2. – Ambiente e Acomodação dos animais

Quando se trabalha com animais de laboratório é muito importante assegurar que estes se mantenham nas melhores condições.

Se houver problemas com os murganhos, então estes terão reflexos no seu comportamento, e por conseguinte, no resultado das experiências. A manutenção de condições ambientais estáveis, portanto, irá assegurar a reprodução dos resultados experimentais, uma vez que resultados diferentes poderão ser obtidos para idênticos parâmetros experimentais com animais em diferentes condições ambientais.

7.2.1. – As gaiolas

Sempre que possível, os animais devem ser alojados em pares, em gaiolas com dimensões de 30x20x15cm (CxLxA) com o fundo coberto por material que permita a absorção das suas fezes e urina, que poderá ser facilmente adquirido em lojas de animais. A mudança desse substrato deverá ser feita no mínimo semanalmente, para evitar maus cheiros. A gaiola deverá, se possível ser em acrílico, com uma tampa de grade que permita a inserção de água e alimento (figura 41). Para distinguir os dois animais dentro de cada gaiola, pode optar-se por

pintar a cauda de um deles com um marcador de tinta permanente mas não alergénica, como os que são utilizados para escrever nos quadros brancos.

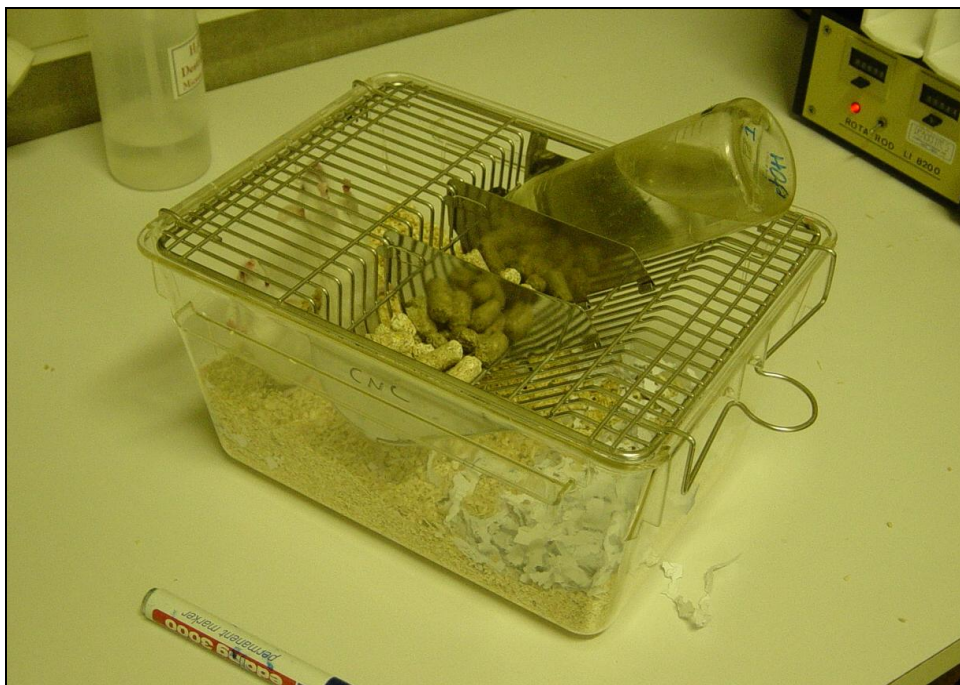


Figura 41 – Fotografia de uma gaiola utilizada nestas actividades. Não é obrigatório que as gaiolas tenham esta configuração. Basta que tenham espaço suficiente, substrato no fundo para absorver fezes e urina, material de enriquecimento e local para pôr a comida e substituir a bebida sem causar grande transtornos aos animais.

Também é importante assegurar aos animais um ambiente onde possam manifestar alguns comportamentos que lhes são naturais, reduzindo as hipóteses de stress ambiental. O enriquecimento do ambiente com tiras de cartão e de papel ou rolos de papel higiénico vazios vai permitir aos animais roer esses objectos para fazer ninho ou então simplesmente para manifestar os comportamentos típicos da sua espécie e assim aumentar o seu bem estar. Deste modo, é importante que entre os alunos se façam escalas, destinando quem limpa as gaiolas e se encarrega de as manter com material de enriquecimento e se responsabiliza pela alimentação dos animais quando o protocolo assim o permitir.

7.2.2. – O ambiente físico

Os murganhos são animais de hábitos noturnos. Como tal, sentem-se melhor na escuridão, e longe de barulhos ou grande agitação. Assim sendo, a sala onde ficarão guardadas as gaiolas deve localizar-se numa zona sossegada, num local limpo, arejado e de pouca luminosidade. De preferência, o local de armazenamento não deve ser o mesmo que o local de realização de testes, de maneira a reduzir a ansiedade aos animais.

A sala de testes deverá encontrar-se escurecida, eventualmente iluminada por uma lâmpada de luz vermelha, que não é identificável pelos animais como agressiva. Para que os animais não entrem em estado de ansiedade, as gaiolas devem ser levadas para o local de testes com um mínimo de 3h de antecedência. Se na sala existir um termoventilador ligado, este terá a vantagem de por um lado mascarar os ruídos do exterior e por outro manter a temperatura regulada.

7.3 – Manuseamento dos Animais

Antes de mais, durante o manuseamento dos animais de laboratório, é imprescindível o uso de luvas, para evitar que se contraiam alergias ou outro tipo de doenças. Sendo de pequenas dimensões, os murganhos são mais fáceis de manusear, mesmo pelos alunos, do que os ratos. São animais em geral dóceis, mas que ainda assim requerem alguns cuidados pois quando se sentem em perigo têm tendência para se defenderem e podem tentar morder o experimentador. Para evitar esse tipo de riscos, os animais devem ser seguros pela cauda, com pinça ou com a mão (entre o dedo polegar e o dedo indicador), conforme indicado na Figura 42.

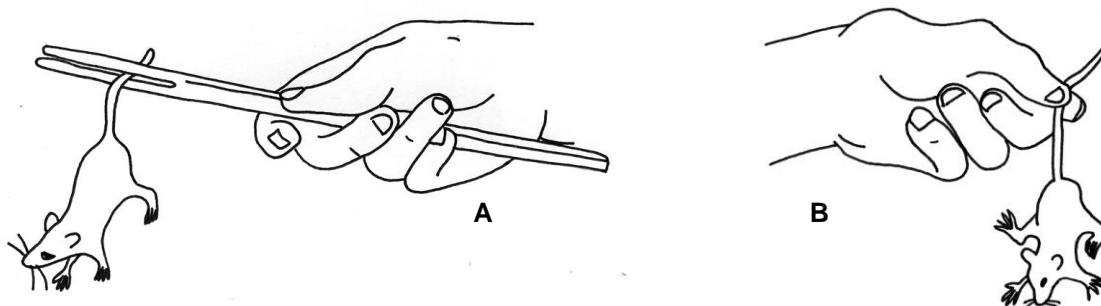


Figura 42 – Forma de segurar os animais utilizando apenas uma mão.
A – Utilização da pinça; B – Forma de segurar com a mão. Imagens adaptadas a partir da internet.

A utilização da pinça, embora possível, não é a melhor, pois os animais sentem-se mais inseguros e correm o risco de fugir, pois a sensibilidade por parte do experimentador é mais reduzida uma vez que não contacta directamente com os animais. Para além disso, deve ter-se muito cuidado com a pressão exercida na cauda. Se for demasiada, pode causar dor ou mesmo esmagar a cauda. Se não for suficiente os murganhos têm maior probabilidade de fugir. Há ainda que ter o cuidado, quando se segura um animal pela cauda, de o fazer próximo da sua base, para reduzir a mobilidade do animal e evitar que se vire para morder no experimentador. Por outro lado, quando são seguros com a mão, em regra, os animais mantêm-se minimamente sossegados e a probabilidade de fuga é menor. No entanto, seja em que caso for, deve evitar-se manter os animais “pendurados” mais tempo que o estritamente necessário, pois é uma posição desagradável e tentarão libertar-se dela o mais rápido possível.

Segurar os animais com recurso às duas mãos é outra hipótese, com a vantagem de que os animais não se debatem tanto. Para isso, o corpo do animal deve ser sustentado com uma das mãos, que segura junto ao pescoço, na zona lombar, sendo que a mão livre do experimentador segura a cauda, tal como descrito no método anterior (Figura 43).

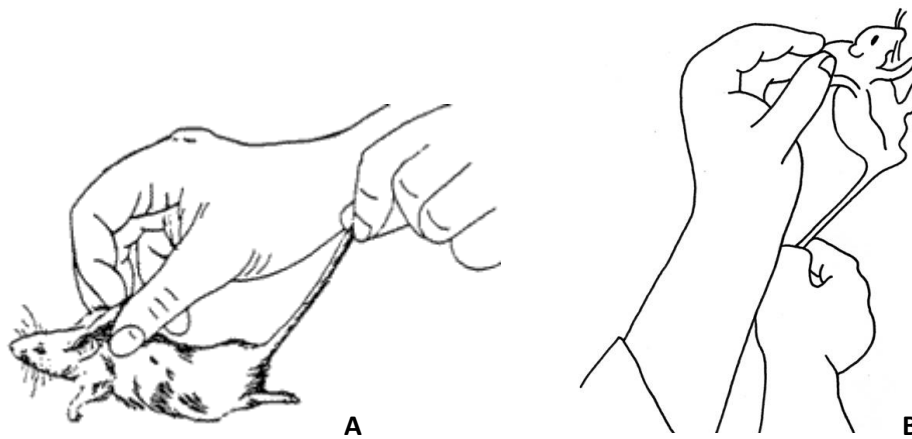


Figura 43 – Forma de segurar os animais utilizando duas mãos. (Imagens adaptadas da internet).

Para minimizar o desconforto dos animais, o experimentador pode ainda posar o animal sobre a manga da bata ou mesmo na mão que tem livre. Neste caso, a utilização de uma luva de jardinagem (suficientemente fina para que se mantenha o máximo de sensibilidade manual possível) ajuda muito, pois os animais sentem-se aconchegados e mantêm-se mais calmos e sossegados, facilitando o manuseamento (Figura 44).



Figura 44 – Formas de segurar os animais utilizando duas mãos e mantendo-os apoiados.

Sempre que for necessário pesar os animais, deve utilizar-se um recipiente de plástico suficientemente grande para o animal lá caber sem fugir, mas com dimensões que, ao mesmo tempo, não lhes permitam ter uma grande amplitude de movimentos, facilitando assim a obtenção de valores mais precisos.

7.4 – Análise e discussão de resultados

Dada a complexidade da parte teórica envolvida nestas actividades, é importante que os alunos tenham já alguns conhecimentos sobre o funcionamento do sistema nervoso central. Assim, cabe ao professor fazer essa introdução prévia, explicando os conceitos básicos de que os alunos irão necessitar para poder discutir os resultados obtidos. Cada protocolo contém ainda alguma informação introdutória adicional, mas que é demasiado específica para se substituir ao professor na introdução da actividade. Do mesmo modo, no final de cada protocolo existem alguns tópicos de discussão, que podem orientar o raciocínio dos alunos. Mas é importante que o professor esteja bem dentro do assunto, para que os alunos possam compreender de forma satisfatória os processos que se dispuseram a analisar. Deve existir na sala de aula um conjunto de computadores ligados à internet e/ou alguma bibliografia específica que os alunos possam consultar de maneira a poderem responder a alguns dos tópicos de discussão propostos.

A realização de um relatório final é muito importante. Contudo, os alunos não se podem esquecer de tirar registos diários. Embora nos protocolos se apresentem sugestões de grelhas, elas não passam disso mesmo. É importante que os alunos sejam capazes de criar as suas próprias grelhas de registo, facilitando o processo de organização final dos resultados. Toda a turma deve participar na discussão de resultados. Contudo, os registos e elaboração de relatórios devem ser, tanto quanto possíveis, feitos a pares, promovendo a entreajuda mas sem que nenhum dos elementos se possa descartar da responsabilidade que lhe cabe na realização das tarefas.

CAPÍTULO 8

PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

INTRODUÇÃO GERAL – Efeitos do etanol no Sistema Nervoso Central

Uma vez ingerido, o álcool segue através da corrente sanguínea até ao encéfalo, onde interfere com o funcionamento do Sistema Nervoso. A acção do etanol verifica-se sobretudo ao nível dos receptores específicos para dois neurotransmissores: GABA (ácido gama-aminobutírico) e glutamato. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do nosso organismo, enquanto que o GABA é o principal neurotransmissor inibitório.

Numa sinapse química, os neurotransmissores libertados na fenda sináptica ligam-se a receptores específicos. Alguns destes receptores são canais que, quando abertos, permitem a passagem de iões de acordo com os seus gradientes de concentração. No caso do GABA, a sua ligação ao receptor pós-sináptico vai permitir o influxo de iões Cl^- , contribuindo assim para que o potencial eléctrico do neurónio pós-sináptico fique mais negativo (hiperpolarizado) e, deste modo, a geração de um potencial de acção seja mais difícil. No caso do glutamato, a sua ligação a receptores pós-sinápticos permite a abertura de canais permeáveis aos iões Na^+ e Ca^{2+} , cuja entrada para a célula vai despolarizar a membrana contribuindo para uma maior facilidade na geração de um potencial de acção.

O etanol é capaz de se ligar aos receptores específicos destes neurotransmissores, mas com efeitos diferentes. No caso dos receptores de GABA, o etanol funciona como um modelador positivo, ou seja, aumenta o efeito do GABA. No caso dos receptores de glutamato, o etanol inibe o seu funcionamento. Então, potenciando a acção de um neurotransmissor inibitório, e reduzindo a acção de um neurotransmissor excitatório, o efeito global do álcool leva a uma redução de actividade do SNC. Dependendo da

Os alunos devem conhecer já os mecanismos da geração do impulso nervoso, da transmissão sináptica, e o mecanismo básico de controlo do movimento pelo sistema nervoso.

Esta introdução geral deve ser facultada aos alunos e explorada antes da realização das actividades experimentais. Deverá estar sempre presente quando se fizer a discussão de cada uma das actividades realizadas.

É importante que os alunos tenham sempre presentes as imagens apresentados no final desta introdução para que as possam comparar com a introdução específica de cada actividade, facilitando a discussão de resultados e elaboração de conclusões.

localização destes receptores específicos no cérebro, as funções pelas quais essas áreas são responsáveis ficarão comprometidas. Existem receptores de GABA e de glutamato em áreas envolvidas no controlo do movimento, nos mecanismos de aprendizagem e memória e também em áreas responsáveis por mecanismos que têm como principal função reforçar comportamentos necessários à sobrevivência, o que poderá levar à procura compulsiva pelo álcool.

A figura 1 mostra a localização dos receptores de glutamato (A e B) e dos receptores de GABA (C) no encéfalo de rato. Observe-as com atenção.

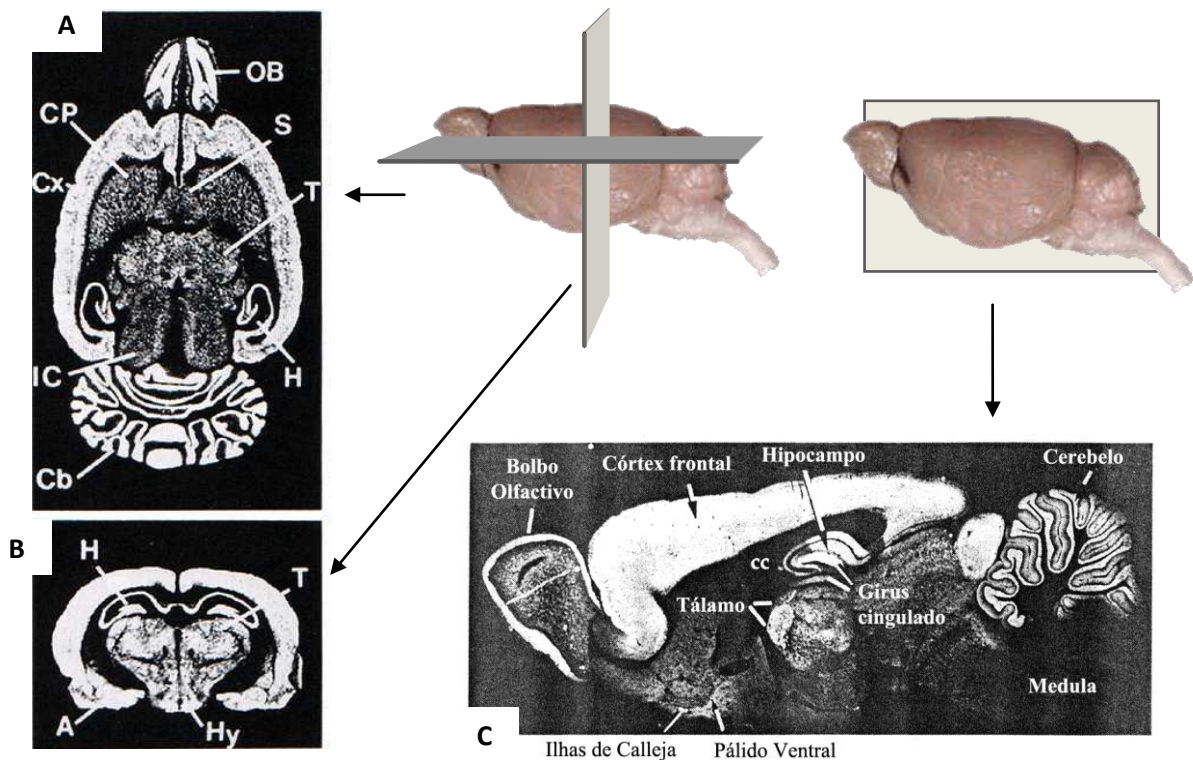


Figura 45 – Figura 1 – Localização dos receptores de glutamato (A e B) e de GABA (C) no encéfalo de rato. As zonas mais claras indicam a presença de receptores que foram detectados com anticorpos específicos. A, amígdala; Cb, cerebelo; CP, putamen caudado ; Cx, córtex; Hy, hipotálamo; IC, colículos inferiores; OB, bolbo olfactivo; S, núcleos septados; T, núcleos do tálamo.

ACTIVIDADE EXPERIMENTAL 1 - Efeitos do Etanol na Coordenação Motora.

Objectivos

- Conhecer os mecanismos gerais de geração de um movimento voluntário.
- Demonstrar que o etanol afecta o controlo do movimento.
- Relacionar os efeitos do álcool com as áreas cerebrais de controlo do movimento

Introdução

Uma das características de alguém embriagado é a descoordenação motora. Sabemos já que o etanol tem efeitos ao nível do sistema nervoso. Mas de que modo isso influencia o movimento?

O sistema nervoso controla todo o organismo. O movimento não é excepção. Quando tomamos a decisão de efectuar um movimento existem estruturas no encéfalo que são responsáveis pelo planeamento desse movimento. Estas áreas cerebrais planeiam que tipo de movimentos é preciso fazer, que músculos contrair, como manter a postura, usando a informação fornecida pelos órgãos sensoriais sobre o ambiente e a posição do corpo. A informação emitida pelas áreas responsáveis pelo planeamento é conduzida até uma zona do encéfalo chamada córtex motor. É daí que vão partir as ordens para os músculos. Cada zona do córtex motor primário é responsável pela estimulação de um grupo de músculos específico (figura 2).

Mas para que o movimento seja preciso e coordenado, é necessário que exista controlo. À medida que o movimento vai sendo executado, os músculos, tendões e os órgãos sensoriais enviam informação de novo para o SNC através dos nervos. O cerebelo recebe essa informação que indica o modo como o movimento está a decorrer, compara-a com o

planeamento inicial e envia de novo informação para o córtex motor para corrigir o que for necessário, para que o resultado seja adequado ao pretendido inicialmente (figura 3).

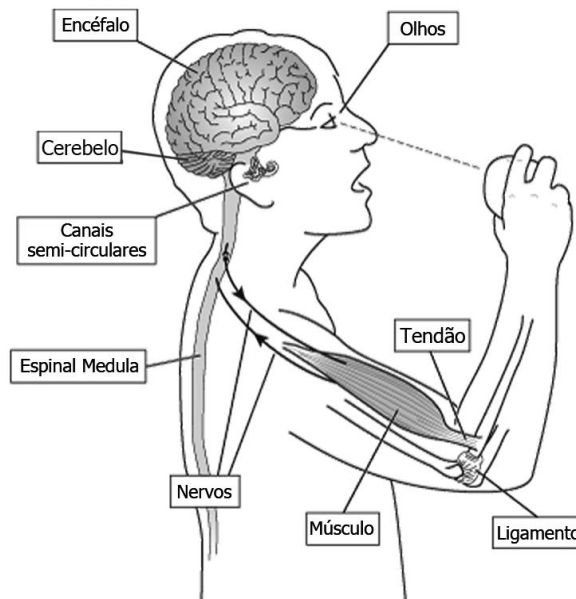


Figura 2 – Esquema geral do mecanismo de controlo do movimento voluntário e estruturas associadas. Quando tomamos a decisão de efectuar um movimento, os nervos que partem dos centros de planeamento do encéfalo enviam a informação para as estruturas responsáveis pelo movimento. Por sua vez, estas enviam informação sensorial de novo para o SNC. O cerebelo compara a informação recebida com a ordem inicial e envia de novo informação para o córtex motor para que sejam feitas as correcções necessárias para que o movimento seja de acordo com o desejado.

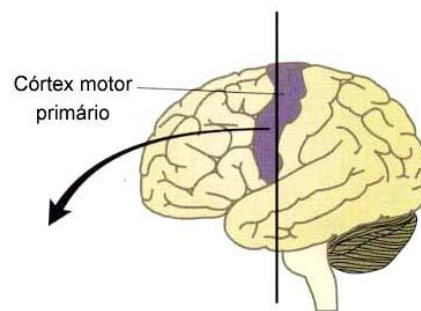
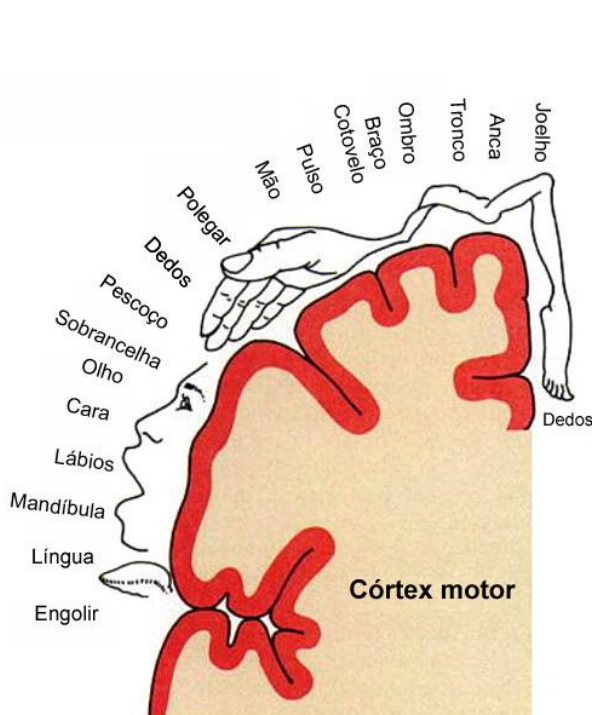


Figura 3 – Representação do corpo no córtex motor. As várias áreas do córtex motor são responsáveis por grupos particulares de músculos. É de notar que as partes do corpo mais representativas são as que envolvem movimentos mais complexos, como a destreza manual ou os músculos envolvidos na vocalização, como os lábios, língua e mandíbula.

Protocolo Experimental

Material

- 12 murganhos machos com 3 a 4 meses
- 6 gaiolas
- 6 biberões para as gaiolas
- Solução de etanol a 10%
- Ração específica para os animais
- Marcador permanente, com tinta não alérgica
- Pano de limpeza
- Água
- Roda motora
- Luvas de látex
- Luva de jardinagem
- Termoventilador

Procedimento

1. Marcar seis murganhos, pintando a sua cauda com o marcador.
2. Distribuir os animais pelas gaiolas, aos pares, de maneira a que fique um animal de cauda pintada em cada gaiola.
3. Numerar as gaiolas.
4. Colocar em todas as gaiolas o material de enriquecimento, 300g de ração e 250mL de água.
5. Efectuar com todos os animais 3 sessões de treino na roda motora, com um intervalo de 3h entre elas. Cada sessão de treino consiste em 4 ensaios para cada animal, espaçados entre si cerca de 2min. Registrar na tabela I o tempo que cada animal aguenta na roda sem cair.
Nota importante: os animais devem ser colocados na roda dois a dois, e de costas voltadas para o experimentador. Se ao fim de 300seg os animais ainda não tiverem caído, devem ser retirados da roda e o ensaio dado por terminado.
6. Entre cada ensaio, limpar a roda com um pano humedecido.
7. No dia seguinte, substituir o biberão das gaiolas 4, 5 e 6 por outro com solução de etanol a 10%.
8. Efectuar a primeira sessão de testes neste dia que será considerado o dia 1 de consumo de etanol. Registrar na Tabela II o tempo que cada animal aguenta na roda.

9. Repetir a sessão de testes aos dias 4, 8 e 12, de preferência sempre à mesma hora e registar os resultados na Tabela II.
10. Fazer a média dos tempos que os animais do grupo controlo permaneceram na roda e o mesmo para o grupo que consumiu álcool.
11. Construir um gráfico com os resultados, representando as alterações no tempo de permanência na roda ao longo do tempo (dias), no grupo controlo e no grupo que consumiu álcool.

Registo de resultados

Tabela I– Tempo de permanência dos animais na roda durante as sessões de treino.

Sessão de Treino	Ensaio	Gaiola1		Gaiola2		Gaiola3	
		M1	M2	M3	M4	M5	M6
1	1						
	2						
	3						
	4						
	Média						
2	1						
	2						

M=murganho

Tabela II – Tempo de permanência dos animais na roda durante a fase de testes.

Bebida		Água						Etanol					
Dia	Ensaio	Gaiola1		Gaiola2		Gaiola3		Gaiola4		Gaiola5		Gaiola6	
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
1	1												
	2												
	3												
	Média												
4	1												
	2												
	3												
	Média												

M=murganho

Tópico 1 – Pretende-se que os alunos associem o aumento do tempo de permanência na roda com o treino e a aprendizagem do movimento necessário para manter o equilíbrio na roda

Tópico 2 – É importante salientar que os murganhos sujeitos a consumo crónico de etanol registam inicialmente uma redução no tempo de permanência. Os alunos também deverão ser orientados no sentido de associar um maior tempo de permanência na roda com uma melhor capacidade de coordenação motora.

Tópico 3 – Pretende-se que os alunos relacionem as quedas com a falta de coordenação motora porque o álcool afecta os centros de coordenação, nomeadamente, o cerebelo. A queda dos animais controlo deverá ser atribuída também ao cansaço.

Tópico 4 – Relacionando com a informação presente na introdução geral, pretende-se que os alunos recordem a presença de receptores de neurotransmissores que podem estar a ser afectados, nomeadamente receptores de GABA e glutamato. O professor pode sugerir a observação das figuras da introdução geral e verificar a existência de receptores no córtex cerebral e cerebelo.

Tópico 5 – Na sequência do tópico anterior, tendo verificado a presença de receptores de GABA e glutamato nos centros que coordenam os movimentos, então o etanol interfere com os mesmos, dificultando a transmissão nervosa necessária à coordenação motora.

Tópico 6 – Os animais sujeitos a consumo crónico de etanol acabam por progressivamente aumentar o tempo de permanência na roda. O professor deverá orientar o raciocínio dos alunos levando-os a apresentar como possível hipótese o desenvolvimento de mecanismos de tolerância aos elevados níveis de etanol em circulação.

Interpretação e discussão dos resultados

1 – Como interpreta a variação do tempo de permanência dos animais na roda antes do início do consumo de álcool?

2 – Compare os resultados obtidos pelos animais do grupo de controlo e pelos animais do grupo que consumiu álcool. Como explica a diferença?

3 – Os animais caem da roda. Porquê? Qual a parte do controlo de movimento que está a falhar?

4 – O que haverá nestas zonas que faz com que sejam afectadas pelo álcool?

5 – Recordando o que foi dito sobre o controlo do movimento, explique de que modo o álcool influencia o controlo dos movimentos.

6 – Procure formular uma hipótese que explique os resultados apresentados nos últimos dias de experiência pelos animais que consumiram etanol.

ACTIVIDADE EXPERIMENTAL 2 - Efeitos do Etanol na Memória.

Objectivos

- Conhecer os mecanismos gerais de formação de memórias.
- Demonstrar que o etanol influencia a capacidade de memorização e aprendizagem.

Introdução

Uma das características importantes do sistema nervoso é permitir a formação de memórias, fundamentais para a aprendizagem. Os processos de aquisição de memórias são complexos e ainda não estão completamente compreendidos. Existem muitos tipos de memórias: a memória de como fazer coisas (por exemplo, andar de bicicleta) ou a memória de factos ou acontecimentos que se pode expressar através da linguagem (por exemplo, a anatomia do sistema nervoso). Em termos temporais, a memória pode ser imediata (sensorial), de curto prazo e de longo prazo. A memória imediata permite reter uma grande quantidade de informação (aquela que recebemos constantemente dos estímulos do ambiente) mas apenas durante alguns segundos. Grande parte dessa informação é esquecida, e a que perdura transforma-se então numa memória a curto prazo, isto é, a informação permanece armazenada durante alguns minutos. Para que essa memória possa ficar devidamente retida e transformar-se numa memória a longo prazo é necessário que seja repetida ou exercitada. Uma das estruturas fundamentais para a formação das memórias a longo prazo é o hipocampo.

Embora o exercício e repetição tenham um papel fundamental na transferência da informação para a memória a longo prazo, existem outros factores importantes para que tal decorra com o sucesso pretendido. Por exemplo, quando um aluno está a estudar, não basta que repita indefinidamente a informação para a conseguir reter. Se o fizer atentamente,

concentrado, motivado e de maneira a compreender essa informação, o processo de aprendizagem será muito mais rápido e eficaz. O esquema da figura 4 resume o mecanismo descrito e a figura 5 indica algumas estruturas cerebrais envolvidas no processo.

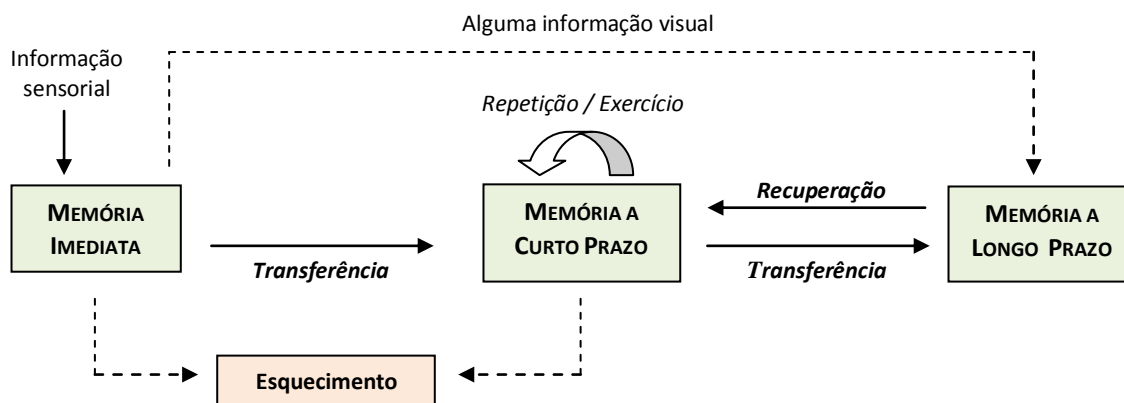


Figura 4 – Modelo geral de armazenamento de informação na memória. A aquisição de informação dá-se ao nível da memória imediata, sendo transferida para a memória a curto prazo. No entanto, a informação adquirida só permanece na memória se for repetida ou exercitada.

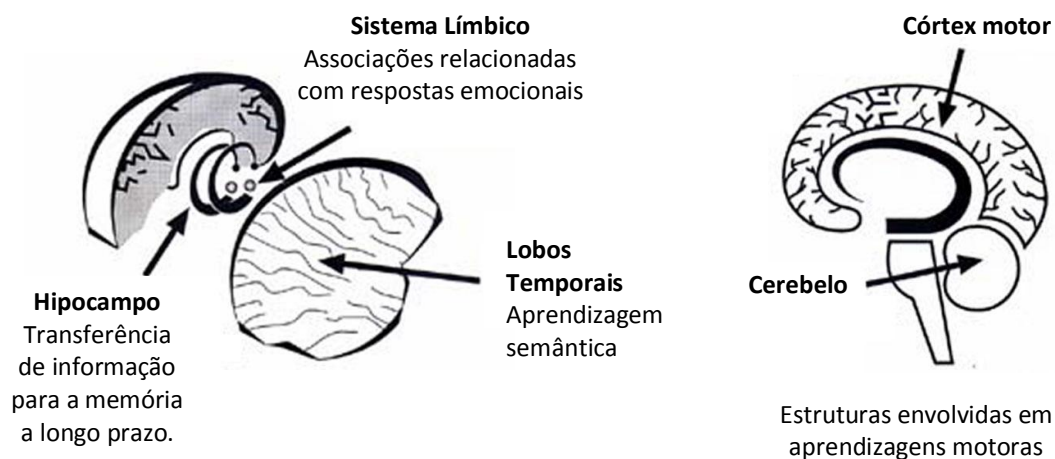


Figura 5 – Algumas estruturas cerebrais envolvidas no processo de aquisição de memórias e aprendizagem.

Uma das formas de testar a capacidade de memória em murganhos baseia-se na curiosidade inata dos roedores que os leva a explorar objectos novos. Tendo estado na presença de um determinado objecto, se posteriormente for exposto a esse objecto e a um novo que ainda não conhece, o animal passará mais tempo a explorar o objecto que não lhe é familiar.

Quando se quer testar a capacidade de memória a curto prazo, o segundo objecto é apresentado aos animais 3h depois do contacto com o primeiro objecto. Para testar a memória a longo prazo o teste é realizado 24h após o primeiro contacto com objectos.

Protocolo Experimental

Material

- 12 murganhos machos com 3 a 4 meses
- 6 gaiolas
- 6 biberões para as gaiolas
- Marcador permanente com tinta não alérgica
- Termoventilador
- Solução de etanol a 10%
- Água
- Ração específica para os animais
- Caixa de cartão de formato cúbico de 50x50cm
- Cartolinas vermelhas
- Papel para plastificar as cartolinas
- Régua
- Cronómetro
- Dois objectos coloridos diferentes¹
- Luvas de látex
- Luva de jardinagem
- Pano de limpeza

Procedimento

1. Cortar as cartolinas à medida das paredes da caixa de cartão.
2. Dividir e marcar na cartolina que ficar na base quadrados com 10cm de lado.
3. Plastificar as cartolinas e forrar com elas a caixa de cartão.

¹ Os objectos devem ser suficientemente coloridos e com formas atractivas de modo a estimular os animais para os explorar mas sem os assustar.

4. Numerar as gaiolas.
5. Colocar em todas as gaiolas o material de enriquecimento e 300g de comida.
6. Marcar seis ratinhos, pintando a sua cauda com o marcador.
7. Distribuir os animais pelas gaiolas, aos pares, de maneira em que em cada gaiola fique sempre um animal de cauda pintada.
8. Colocar nas gaiolas 1, 2 e 3 um biberão com 250mL de água e nas gaiolas 4, 5 e 6 um biberão com 250mL de solução de etanol a 10% e aguardar uma semana.
9. Colocar cada murgancho dentro da caixa durante 20min, para adaptação. Limpar a caixa antes de cada utilização com um pano húmido para evitar cheiros de animais que tenham lá estado anteriormente.

10. Colocar o objecto que for definido como “objecto 1” na caixa 45min depois da adaptação, numa posição lateral conforme indica o esquema da figura 6.

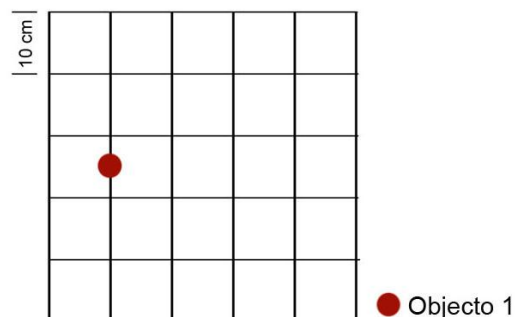


Figura 6 – Forma de colocar o primeiro objecto na caixa.

11. Colocar o ratinho dentro da caixa durante 10min. Ao longo deste tempo devem ser contabilizados os seguintes parâmetros: o tempo de exploração² de cada objecto, o número de quadrados atravessados e o número de elevações nas patas posteriores. Registrar os resultados na tabela III.

12. Depois de realizar esta primeira exposição, colocar o segundo objecto na caixa, conforme indica o esquema da figura 7.

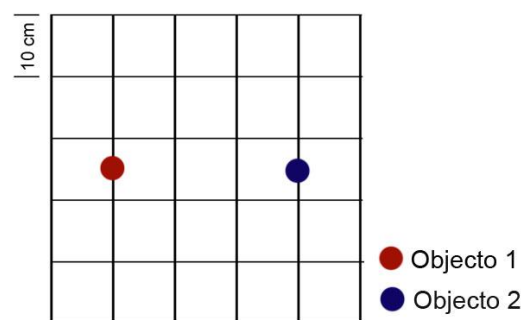


Figura 7 – Forma de colocar os dois objecto na caixa.

² Apenas se conta como tempo de exploração aquele em que o animal demonstra interesse pelo objecto. A simples passagem dos murganchos junto dos objectos sem demonstrar interesse, mesmo tocando neles, não conta como tempo de exploração (figura 8).

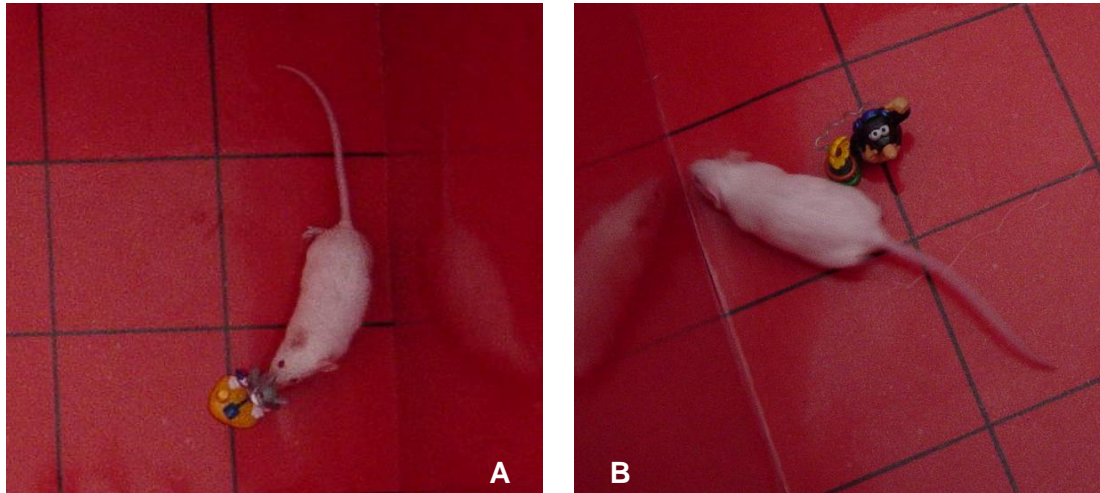


Figura 8 – Atitudes dos animais relativamente aos objectos. A – Atitude de interesse, conta como tempo de exploração. B – Passagem na proximidade, não conta como tempo de exploração.

13. Ao fim de 3h, voltar a colocar o animal dentro da caixa durante 10min, agora na presença dos dois objectos. Os parâmetros a contabilizar serão os já referidos no ponto 11. Registrar os resultados na tabela III.
14. Repetir o teste ao fim de 24h e registar os resultados.
15. Calcular o índice de reconhecimento dos objectos ao fim de 3h e de 24h para o grupo de controlo e para o grupo que consumiu etanol de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de reconhecimento (IR)} = \left[\frac{t_1}{t_1 + t_2} \right] \times 100$$

Em que: t_1 = tempo dispendido a explorar o objecto 1
 t_2 = tempo dispendido a explorar o objecto 2.

16. Construir gráficos com os resultados dos testes de memória. Sugere-se a construção dos seguintes gráficos:
 - Gráfico 1 - Índice de reconhecimento a curto e longo prazo para cada um dos grupos de animais;

- Gráfico 2 - Tempo médio total de exploração do objecto 1 e tempo médio total de exploração do objecto 2;
- Gráfico 3 - Número de elevações e número de quadrados percorridos no total por cada grupo de animais.

Registo de resultados

Tabela III – Tempo de exploração de objectos e parâmetros locomotores de controlo

Bebida		Água						Etanol					
	Objecto	Gaiola1		Gaiola2		Gaiola3		Gaiola4		Gaiola5		Gaiola6	
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
3h	1												
	2												
Média Objecto 1													
Média Objecto 2													
24h	1												
	2												
Média Objecto 1													
Média Objecto 2													
IR													
Parâmetros de controlo motor													
3h	Elevações												
	Quadrados												
24h	Elevações												
	Quadrados												

M = murganho

Análise e interpretação de resultados

- 1 – Com base na análise do gráfico 1, indique em que teste é que os animais tiveram melhor desempenho. No teste da memória a curto prazo ou no da memória a longo prazo?

- 2 – Explique as diferenças observadas com base nos mecanismos necessários para a formação de cada um destes tipos de memória.

- 3 – Três horas após a exploração do primeiro objecto, qual o grupo de animais que melhor se recordava do mesmo? E ao fim de 24h?

- 4 – Que conclusões pode tirar sobre a influência do etanol na formação de memórias? Baseie a sua resposta nos dados obtidos.

- 5 – Explique a importância da medição de parâmetros de controlo de locomoção numa actividade como esta.

Tópico 1 – Os alunos verificarão que o índice de reconhecimento é sempre superior na memória a curto prazo do que na memória a longo prazo, independentemente do consumo de álcool.

Tópico 2 – O professor procurará orientar a discussão da turma no sentido de recordar os mecanismos de formação de memórias e associar a importância da repetição para a formação de memórias a longo prazo, o que neste caso não aconteceu porque os animais não voltaram a estar em contacto com o objecto que lhes foi primeiramente apresentado.

Tópico 3 – Pretende-se que os alunos cheguem à conclusão de que os animais sujeitos a consumo crónico de etanol, apesar de eventuais diferenças registadas entre os resultados obtidos ao fim de 3h e de 24h, apresentam IR inferior aos animais controlo.

Tópico 4 – Tendo em conta que os animais sujeitos a consumo crónico de etanol apresentam sempre um IR inferior ao dos animais controlo pode concluir-se que o etanol reduz a capacidade de formação de memórias.

Tópico 5 – O professor procurará orientar a discussão no sentido de levar os alunos a compreender que este tipo de teste só é válido se os animais de ambos os grupos apresentarem uma actividade locomotora semelhante. Caso os animais sujeitos a consumo crónico de etanol apresentassem uma actividade locomotora mais reduzida que os animais do grupo controlo, não se poderia inferir se os resultados obtidos seriam devido aos efeitos do etanol nos mecanismos de formação de memórias ou nos mecanismos responsáveis pelas capacidades de exploração e movimentação.

Tópico 6 – Caso não se verifiquem diferenças significativas na capacidade locomotora dos animais, não se podem atribuir as diferenças no IR a dificuldades de locomoção. Até será de prever que os animais sujeitos a consumo de etanol, por estarem desinibidos, apresentem uma actividade exploratória maior que os animais controlo. Será interessante discutir este facto com a turma. Do mesmo modo, o professor deverá levar os alunos a relacionar o tipo de material utilizado com o sucesso ou insucesso de uma experiência. Neste caso, se os animais apresentassem preferência ou receio por algum dos objectos, não se poderia aferir com neutralidade a sua capacidade de exploração.

Tópicos 7 e 8 – Os alunos irão identificar na figura estruturas que utilizam GABA e glutamato como neurotransmissores. Se o etanol tem um efeito depressor sobre o sistema nervoso, então a actividade destas estruturas também será reduzida, dificultando a formação de memórias. O professor poderá referir que os receptores de glutamato têm uma grande importância na consolidação de memória ao nível do hipocampo.

Será interessante se o professor antes do início da actividade fizer a exploração da fórmula de cálculo do índice de reconhecimento com toda a turma. Se os alunos compreenderem o fundamento que está por detrás do cálculo também compreenderão melhor os resultados obtidos.

É frequente que os alunos, ao ver um resultado próximo de 50% o associem ao reconhecimento do objecto. Contudo, se isto acontecer, é apenas porque o tempo de exploração de um ou dos dois objectos em simultâneo é o mesmo. Isto significa que os animais não se recordam do primeiro objecto, dividindo o tempo de exploração quer pelo que já deviam conhecer, quer pelo novo objecto.

- 6 – Com base nos gráficos 2 e 3, pode afirmar-se que a experiência decorreu nas melhores condições? Porquê?

- 7 – Procure identificar na figura 1 da introdução geral estruturas envolvidas na formação de memórias que contenham receptores de GABA e glutamato.

- 8 – De que maneira é que a acção do etanol sobre estes receptores pode influenciar a aquisição de memórias?

ACTIVIDADE EXPERIMENTAL 3 – Viciação em álcool.

Objectivos

- Demonstrar que o etanol vicia do mesmo modo que outras drogas de abuso
- Compreender a função do sistema de recompensa no desenvolvimento de um comportamento de busca compulsiva duma droga de abuso.
- Compreender a função natural do sistema de recompensa na sobrevivência dos animais.

Introdução

Se nos seres humanos o consumo de álcool tem uma componente social, nos animais isso não acontece. Os murganhos não bebem etanol facilmente porque tem um sabor que não é agradável para a espécie. No entanto, se lhes for dado a beber álcool disfarçado com um sabor doce, acabam por se tornar dependentes e viciados.

Com esta actividade pretende-se verificar que o álcool pode tornar um animal viciado. Utilizando animais, à partida excluem-se os factores sociais que os seres humanos normalmente associam a contextos onde existe consumo de bebidas alcoólicas. Com os murganhos irá realizar-se um teste de preferência condicionada de local. Para isso usam-se gaiolas comunicantes, forradas a cores ou padrões diferentes, como indicado na figura 9. O álcool é colocado na água para beber apenas num dos compartimentos. Após uma fase em que o animal aprende a associar a disponibilidade de álcool a um padrão da gaiola, determina-se na ausência de bebida o tempo que o animal passa em cada um dos compartimentos. O facto do animal passar mais tempo no compartimento onde tivera acesso a álcool revela que o animal procura esta bebida

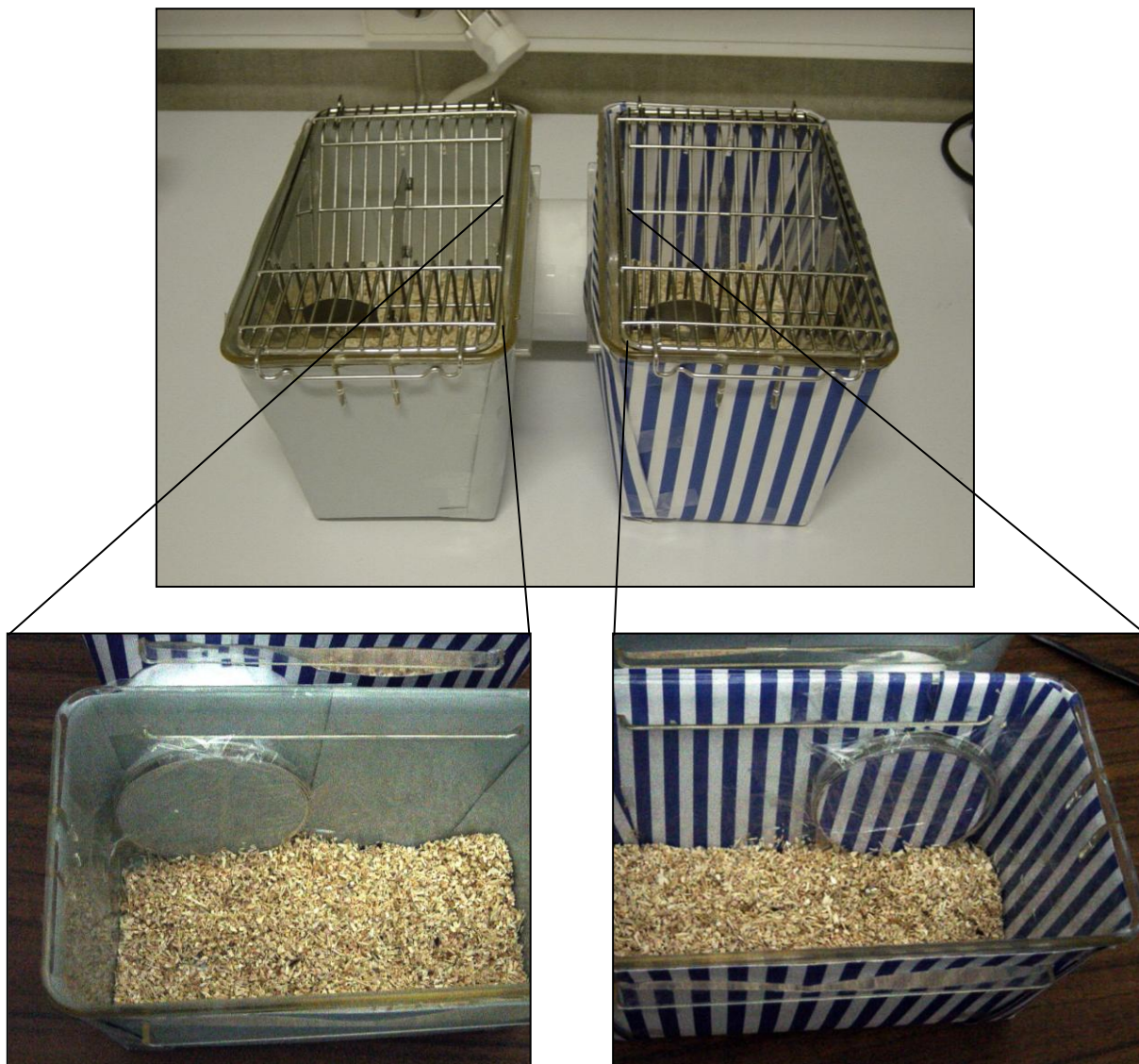


Figura 9 – Gaiolas usadas no teste de preferência condicionada de local. Os compartimentos das gaiolas comunicam entre si. As imagens em pormenor mostram o modo como a passagem é tapada. Na fase de testes a passagem é aberta.

O teste é constituído por três fases: fase de pré-condicionamento, fase de condicionamento e fase de teste. Na fase de pré-condicionamento, os animais são colocados nas gaiolas, com a passagem livre entre ambas, registando-se o tempo passado em cada um dos compartimentos. Na fase de condicionamento, é fechada a passagem entre as gaiolas e colocado um tipo de bebida em cada um dos compartimentos. Como os animais passam bastante tempo em cada um dos compartimentos em que só têm acesso a um tipo de bebida, associam o padrão do compartimento ao tipo de bebida que lá se encontra. Na fase de teste

são retirados os biberões com as bebidas, abre-se a passagem entre os compartimentos e mede-se o tempo que o animal passa em cada um dos compartimentos. A figura 10 resume o protocolo utilizado.

Protocolo Experimental

Material

- 12 murganhos machos com 3 a 4 meses
- Dois conjuntos de gaiolas comunicantes
- Cartolinas com padrões diferentes
- Tesoura, cola e fita adesiva
- 2 biberões para as gaiolas
- Marcador permanente, com tinta não alérgica
- Termoventilador
- Solução de etanol a 10%
- Água
- Ração específica para os animais
- Cronómetro
- Luvas de látex
- Luvas de jardinagem

Procedimento

1. Forrar cada uma das gaiolas com uma cartolina de padrão diferente. Sugere-se cinza e um padrão riscado, de cor neutra, como o azul ou o preto.
2. Marcar um dos animais, pintando a sua cauda com o marcador.
3. Colocar o murganho 1 dentro das gaiolas comunicantes, com a passagem aberta, durante 20min e cronometrar o tempo que o animal passa em cada compartimento.
4. Repetir o mesmo procedimento para o murganho 2.
5. Fechar a passagem entre os compartimentos e colocar um animal dentro de cada compartimento.

6. Colocar no compartimento cinzento 200g de comida e um biberão com 250mL de água e no compartimento riscado, para além da comida, colocar um biberão com 250mL de solução de etanol a 10%.
7. Ao fim de 48h, trocar os ratinhos de compartimento e ir repondo a comida e bebida a cada troca.
8. Repetir o passo 7 três vezes, até cada animal perfazer um total de 6 dias em cada compartimento.
9. Retirar os animais para outra gaiola.
10. Retirar os biberões e a comida das gaiolas comunicantes e abrir a passagem entre os 2 compartimentos.
11. Colocar o murgancho 1 nas gaiolas, medindo o tempo que o animal passa em cada compartimento, durante um período de 20min.
13. Repetir o procedimento para todos os animais, sendo que para metade deles se altere a ordem dos biberões com água e etanol, de maneira a que passem a associar a água ao compartimento riscado e o álcool ao compartimento cinzento.
14. Construir um gráfico de barras com os tempos médios passados pelos animais em cada compartimento.

Registo de Resultados

Tabela IV – Tempo passado pelos animais em cada compartimento

Fase	Compartimento	Gaiola1		Gaiola2		Gaiola5		Gaiola6		Média
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	
Pré-ndicio-namento	Cinza									
	Riscas									
Teste	Água									
	Etanol									

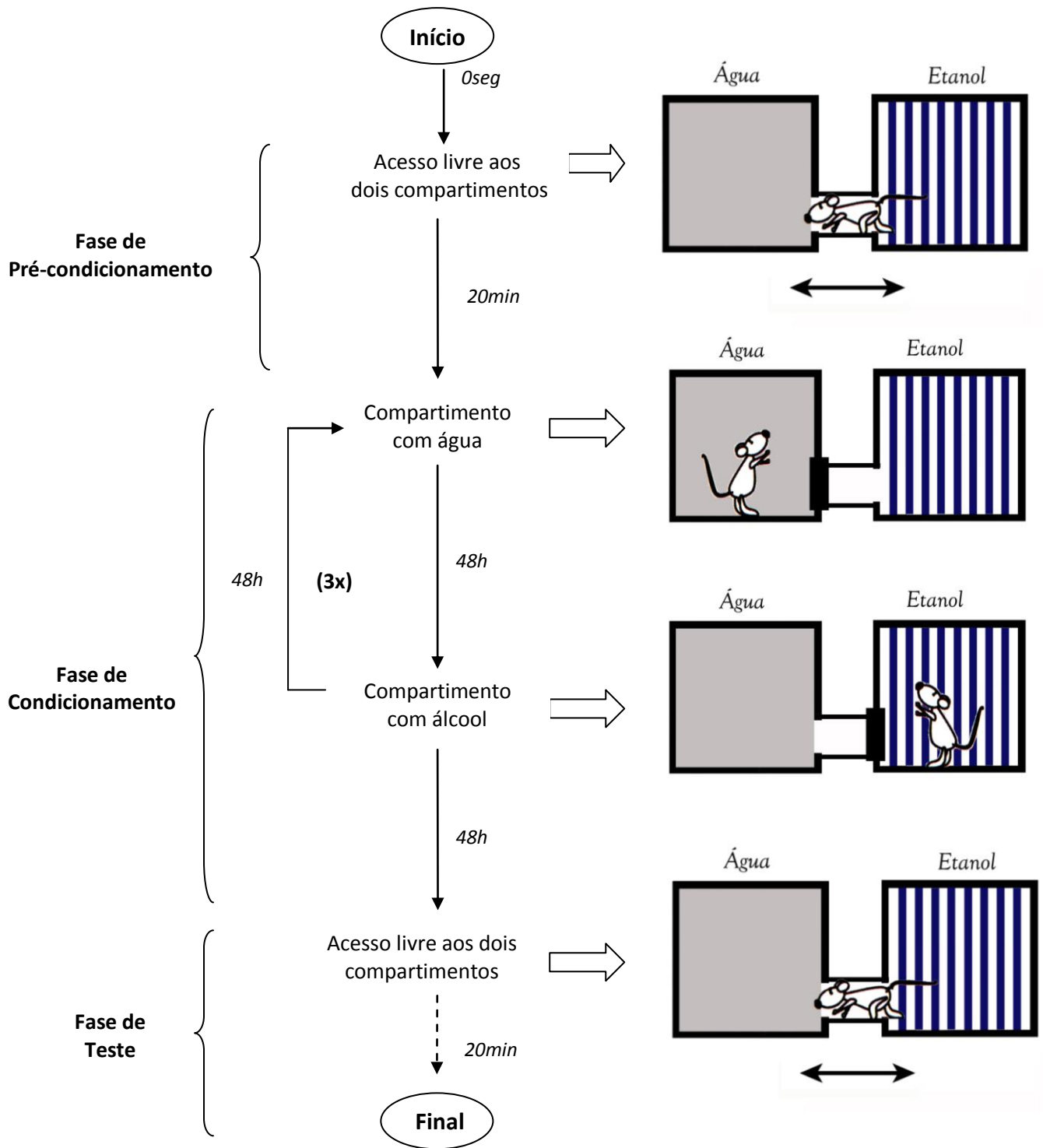


Figura 10 – Resumo do Teste de Preferência Condicionada de Local. O teste envolve apenas um animal de cada vez. A representação de dois animais no esquema simboliza que o animal pode passar livremente entre os dois compartimentos. A mudança descrita na fase de condicionamento ocorre três vezes.

Tópico 1 – Pretende-se que os alunos compreendam que se os animais revelarem à partida preferência ou aversão por algum compartimento, os resultados são afectados. O professor deverá levar os alunos a compreender que a fase de pré-condicionamento é um controlo experimental essencial. Caso os animais não mostrem diferenças no tempo que passam em cada um dos compartimentos, os alunos devem concluir que as condições de realização da experiência são adequadas.

Tópico 2 – O professor deverá orientar a discussão levando os alunos a reflectir sobre eventuais diferenças individuais que poderão existir nos animais. Pretende-se que os alunos entendam esta parte do protocolo como mais um controlo experimental. Associando a cada bebida os dois compartimentos, é possível eliminar o efeito das diferenças individuais dos animais ou contornar a eventualidade de na fase de pré-condicionamento os animais manifestarem preferência por um dos compartimentos.

Tópico 3 – O facto dos animais passarem mais tempo no compartimento associado ao etanol deverá levar os alunos a concluir que os mecanismos de procura compulsiva são intrínsecos aos animais, motivados pelo etanol, e não por contextos sociais ou ambientais. Será interessante também discutir a hipótese da procura devido a sintomas de privação e ver qual a reacção da turma. Contudo, no final deverá ficar claro que neste caso essa hipótese não se coloca, uma vez que os animais não estiveram em privação até à fase de testes.

Análise e interpretação de resultados

1 – Por que razão é necessário determinar o tempo que os animais passam em cada compartimento da gaiola antes de se introduzir o álcool (fase de pré-condicionamento)?

2 – Qual a importância de fazer com que metade dos animais associasse o álcool a um tipo de compartimento, e a outra metade dos animais associasse ao outro compartimento?

3 – Que conclusões pode tirar dos resultados da fase de testes?

4 – Se o álcool não tem um sabor agradável, o que levará os animais a procurar o seu consumo?

Tópico 4 – Aqui o professor deverá introduzir o sistema de recompensa. Pretende-se que os alunos percebam que para existir procura é porque a sensação transmitida pelo consumo é agradável. O professor deverá orientar o diálogo levando os alunos a reflectir na importância de os seres vivos executarem determinados comportamentos necessários à sua sobrevivência, tais como alimentação, reprodução, etc. Os alunos serão levados a concluir que este é um mecanismo que permite assegurar não só a sobrevivência dos indivíduos, como a continuidade da espécie.

5 – O que acontecerá se ao fim de algum tempo os animais forem impedidos de consumir etanol?

Tópico 5 – O professor deverá orientar a discussão no sentido de levar os alunos a concluir que após consumo prolongado de etanol se desenvolvem sintomas de privação devido a dependência física. As alterações nos circuitos neuronais levarão à procura compulsiva pelo etanol.

Após a discussão dos resultados, será interessante reflectir com a turma sobre a acção das drogas de abuso sobre este “sistema de recompensa”. É importante que os alunos percebam que um mecanismo natural e importante para a sobrevivência do organismo também o pode levar à destruição quando activado de forma anómala por drogas de abuso.

Bibliografia

Livros

BAUMANS, V.; REMIE R.; HACKBARTH H. J.; TIMMERMAN, A. (2001) "Experimental Procedures", in "Principles of Laboratory Animal Science", Revised Edition; Elsevier, Amsterdam.

CAMPBELL, N. A.; REECE, J. B. (2008) "Biology", 8th ed. Benjamin Cummings, San Francisco.

Departamento da Educação Básica (2001) "Currículo Nacional do Ensino Básico – Competências Essenciais", Ministério da Educação.

FELDMAN, R. S.; MEYER, J. S.; QUENZER, L. F. (1997) "Principles of Neuropsychopharmacology", Sinauer Associates, Inc., Massachusetts.

FOX, S. I. (2008) "Human Physiology", 10th ed., WCB McGraw-Hill Companies Inc., Boston.

GALVÃO, C. *et al.* (2001) "Orientações Curriculares para o 3º ciclo do Ensino Básico – Ciências Físicas e Naturais", Ministério da Educação – Departamento da Educação Básica.

HAVENAAR, J. *et al.* (2001) "Biology and husbandry of laboratory animals", in "Principles of Laboratory Animal Science", Revised Edition, Elsevier, Amsterdam.

JULIEN, R. M. (2005); "A Primer of Drug Action", 10th ed., Worth Publishers, New York.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. (1998) "Essentials of Neuroscience and Behaviour", International Edition, Prentice Hall International, Inc., London.

MEYER, J. S. e QUENZER, L. F. (2005) "Psychopharmacology – Drugs, Brain and Behaviour", Sinauer Associates, Inc., Massachusetts.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2002) "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals", 6th ed., National Academy Press, Washington, D.C.

NESTLER, E. J.; HYMAN, S. E.; MALENKA, R. C. (2001) "Molecular Neuropharmacology: a foundation for Clinical Neuroscience", McGraw-Hill Inc. – Medical Publishing Division, New York.

NICHOLLS, J. G. *et al.* (2001) "From Neuron to Brain", Sinauer Associates, 4th ed., Sunderland, Massachussets.

PURVES, D. *et al.* (2008) "Neuroscience", 4th ed., Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachussets.

SADAVA, D. *et al.* (2010) "Life – The Science of Biology", 9th ed., W. H. Freeman and Company, Salt Lake City.

SHEPHERD, G. M. (1994) "Neurobiology", 3rd ed., Oxford University Press, New York.

THOMPSON, R. F. (2004) "The Brain – a Neuroscience Primer", 3rd ed., Worth Publishers, New York.

VAN DER BOGAARD, A. E. J.M. *et al.* (2001) "Organization and Management of Animal Experiments", *in* "Principles of Laboratory Animal Science", Revised Edition; Elsevier, Amsterdam.

Artigos Científicos

AARON, M. W. (2003) "What Happened? Alcohol, Memory Blackouts and the Brain", Alcohol Research and Health, Vol. 27, No. 2 186-195.

BAILEY, C. P. *et al.* (2000) "Prolonged Changes in Neurochemistry of Dopamine Neurons after Chronic Ethanol Consumption", Pharmacology Biochemistry and Behavior, Vol. 6, No. 1, pp. 153-161.

- CHESTER, J. A. e CUNNINGHAM, C. L. (2000) "GABA_A receptor modulation of the rewarding and aversive effects of ethanol", *Alcohol*, 26, pp. 161-143.
- CUNNINGHAM, C. L. *et al.* (2000), "Ethanol-conditioned place preference is reduced in dopamine D2 receptor-deficient mice"; *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 67, pp. 693-699.
- DAVIES, M. (2003) "The role of GABA receptors in mediating the effects of alcohol in the Central Nervous System"; *J. Psychiatry Neuroscience*, Vol. 28, No.4, pp. 263-74.
- DIANA, M. *et al.* (1993) "Profound decrement of mesolimbic dopaminergic neuronal activity during ethanol withdrawal syndrome in rats: Electrophysiological and biochemical evidence.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 90, pp. 7966-7969.
- DIAMOND, I. e MESSING, R. O. (1994) "Neurologic effects of alcoholism" *in Neurology – From Basics to Bedside [Special Issue]*, *West J Med*, Vol. 161, pp. 279-287.
- DI CHIARA, G. E IMPERATO, A. (1988) "Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 85, pp. 5274-5278.
- JONES, N., *et al.* (2008) "AMPA Receptor Potentiation can Prevent Ethanol-Induced Intoxication", *Neuropsychopharmacology*, 33, pp. 1713–1723.
- MEER, P. e RABER, J. (2005) "Mouse Behavioural Analysis in Systems Biology", *Biochem. J.*, 389, pp. 593-610.
- NELSON, T. E. e GRUOL, C. N. (2005) "Chronic intermittent ethanol exposure enhances NMDA-receptor-mediated synaptic responses and NMDA receptor expression in hippocampal CA1 region"; *Brain Research*, 1048, pp. 69-79.
- PIERCE, R. C. e KUMARESAN, V. (2006), "The mesolimbic dopamine system: The final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse?", *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30, pp. 215–238.

ROBERTS, A. J. e KOOB, G. F. (1997) "The neurobiology of addiction – an overview"; Alcohol Health & Research World, Vol. 21, No. 2, pp. 101-106.

SCOTT, S. H. (2004); "Optimal feedback control and the neural basis of volitional motor control", Nature Reviews Neuroscience 5, 532-546.

SERVAIS, L. *et al.* (2005); "Effect of chronic ethanol ingestion on Purkinje and Golgi cell firing in vivo and on motor coordination in mice", Brain Research, 1055, pp. 171-179.

SPANANGEL, R. e WEISS, F. (1999) "The Dopamine Hypothesis of Reward: Part and current status", Trends in Neuroscience, Vol. 22, No. 11, pp. 521-527.

SPANANGEL, R. (2009) "Alcoholism: A Systems Approach From Molecular Physiology to Addictive Behavior", Physiol Rev, 89: pp. 649–705.

TABAKOFF, B. e HOFFMAN, P. (2000) "Animal Models in Alcohol Research", Alcohol Research and Health, Vol. 24, No. 2, pp. 77-84.

WEISS, F. e PORRINO, L. (2002) "Behavioral Neurobiology of Alcohol Addiction: Recent Advances and Challenges", 22(9), pp. 3332-3337.

Internet

Flicka Michaels (2003) "How does Memory Work? How can we improve our memories?" *in* <http://serendip.brynmawr.edu/biology/b103/f03/web1/fmichaels.html>

Jennifer Webster (2000) "Addiction and the Reward Circuit" *in* <http://serendip.brynmawr.edu/bb/neuro/neuro00/web3/Webster.html>

University of Rochester Medical Center “Manual on the Responsible Care and Use of Laboratory Animals” *in*

<http://www.urmc.rochester.edu/ucar/policies/documents/UCARManualupdate8-10.pdf>

Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (2006) UM COMPROMISSO COM A CIÊNCIA PARA O FUTURO DE PORTUGAL - Vencer o atraso científico e tecnológico *in*

http://www.portugal.gov.pt/pt/Documentos/Governo/MCTES/Compromisso_Ciencia_2007_2009.pdf

Referências das imagens retiradas da internet

Figura 1 - <http://www.mocho.pt/local/local/ciencia3d/quimica/bibmolec/modelos/etanol.jpg>

Figura 14 - http://www.utdallas.edu/~tres/pharm/NMDA/display8_10.html

Figuras 42 (A e B) e 43B - <http://www.ahc.umn.edu/rar/restraint/hmouse.jpg>

Figura 43A - <http://www.urmc.rochester.edu/ucar/policies/documents/UCARManualupdate8-10.pdf>

Figura 2 dos protocolos para os alunos - <http://www.down-syndrome.org/updates/193/>