

**PAULO CESAR HADDAD**

**ESTUDO COMPARATIVO DA TOXICIDADE  
EXERCIDA PELO DIAZEPAM E BUSPIRONA,  
NO PROCESSO DE REGENERAÇÃO  
HEPÁTICA, EM RATOS PARCIALMENTE  
HEPATECTOMIZADOS**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Piracicaba da UNICAMP, para obtenção  
do grau de Doutor em Ciências - Área de  
Farmacologia.

**PIRACICABA  
1995**

H117e

27871/BC

*este exemplar  
foi devidamente  
consignado conforme  
Resolução CCB/83  
de 24 de maio de 1996*

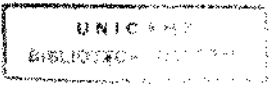
**PAULO CESAR HADDAD**

**ESTUDO COMPARATIVO DA TOXICIDADE  
EXERCIDA PELO DIAZEPAM E BUSPIRONA,  
NO PROCESSO DE REGENERAÇÃO  
HEPÁTICA, EM RATOS PARCIALMENTE  
HEPATECTOMIZADOS**

**Orientador: Prof.Dr. THALES ROCHA DE MATTOS  
FILHO**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia  
de Piracicaba da UNICAMP, para obtenção  
do grau de Doutor em Ciências - Área de  
Farmacologia.

**PIRACICABA  
1995**



010001

UNIDADE	BC
INSTITUIÇÃO	UNICAMP
V.	27871
	667/96
	X
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	03/07/96
N.º CPD	

CM-00085520-0

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA FOP/UNICAMP**

H 117e HADDAD, Paulo César  
 Estudo comparativo da toxicidade exercida pelo diazepam e buspirona, no processo de regeneração hepática, em ratos parcialmente hepatectomizados. / Paulo César Haddad. - Piracicaba, S.P. : [s.n.], 1995.  
 f. : il.  
 Orientador : Thales Rocha de Mattos Filho  
 Tese (doutoramento) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.  
 1. Drogas - Toxicologia. 2. Diazepam. 3. Psicofarmacologia. 4. Testes funcionais hepáticos. I. Mattos Filho, Thales Rocha de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.  
 19.CDD - 612.640136

Índices para Catálogo Sistemático

Regeneração Hepática 612.640136



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 15/12/95, considerou o candidato aprovado.

1. Thales Rocha de Mattos Filho

2. José Ranali

3. Ronaldo Célio Mariano

4. Pedro Paulo Barros

5. Thomaz Wassall

À Dra. SILVIA CRISTINA DO AMARAL HADDAD, cuja fibra e dedicação lhe permitiram a pluralidade de funções, amiga, esposa e mãe;

Aos meus filhos JULIANA, PAULO CESAR e BRUNO razão maior da dedicação e estímulo da minha formação profissional;

Dedico esse trabalho.

Ao meu Pai Dr. JAMIL HADDAD cuja abnegação, dedicação à família e respeito aos preceitos morais, o tornaram um vitorioso, e por isso um exemplo a ser seguido;

A minha Mãe, minha sempre amiga Mãe, cujas mãos me serviram de apoio nos meus primeiros passos, e hoje me afagam nos meus tropeços;

Minha Alegria de ser Filho.

Aos meus avós, irmãos, sogros e cunhados, que sempre me apoiaram e me ajudaram;

Meu muito obrigado.

Ao Prof. Doutor THALES ROCHA DE MATTOS FILHO, orientador e amigo nas horas de trabalho e amigo nos momentos de lazer, fiel depositário das angústias e dificuldades encontradas na realização desse trabalho;

Minha gratidão.



Ao meu Padrinho Dr. ANTONIO HADDAD (In Memoriam) o qual em vida se fez presente e cujo destino o quis luz para iluminar nossos passos;

A alegria por tê-lo conhecido.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor JOSÉ MARTINS FILHO, Magnífico Reitor da UNICAMP, pelo apoio ao Ensino e à Pesquisa e ao nosso meio universitário.

Ao Professor Doutor JOSÉ RANALI, Diretor da FOP/UNICAMP, pela dedicação e trabalho desenvolvido em prol do engrandecimento de nossa Faculdade.

Ao Professor Doutor OSLEI PAES DE ALMEIDA, Diretor Associado da FOP/UNICAMP, pelo apoio e incentivo à pesquisa em nossa Faculdade.

Ao Professor Doutor FRAB NORBERTO BOSCOLO, Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP, pela atenção dispensada.

Ao Professor Doutor THALES ROCHA DE MATTOS FILHO, Coordenador do Curso de Pós-Graduação - Área de Farmacologia, da FOP/UNICAMP, pela dedicação para com os alunos.

À Professora Dra. SÔNIA VIEIRA, pela colaboração na avaliação estatística deste trabalho.

Aos Professores Drs. do Curso de Pós-Graduação - Área de Farmacologia da FOP/UNICAMP, EDUARDO DIAS DE ANDRADE e PEDRO LUIZ ROSALEN, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos Professores do Curso de Graduação - Área de Farmacologia da FOP/UNICAMP, MARIA CRISTINA VOLPATO e FRANCISCO CARLOS GROPPPO, pelo companheirismo demonstrado.

Aos Técnicos de Laboratório JOSÉ CARLOS GREGÓRIO e ADEMIR MARIANO, pelo auxílio no manuseio dos animais e nas atividades laboratoriais.

À Secretária MARIA ELISA DOS SANTOS, secretária da Área de Farmacologia da FOP/UNICAMP, pelo carinho e dedicação que sempre nos atendeu.

À Bibliotecária LUZIA DE FÁTIMA DA SILVA, Bibliotecária da Biblioteca da FOP/UNICAMP, que gentilmente nos auxiliou na ordenação da revisão bibliográfica da tese.

À Secretária ANA MARIA COSSA OLIVEIRA, secretária da Comissão dos Cursos de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP, pela boa vontade e eficiência na resolução dos nossos problemas.

À Secretária SUZETE REGINA TOBIAS NEDER, secretária do Departamento de Morfologia da FOP/UNICAMP, pelos serviços datilográficos.

Aos alunos do Curso de Pós-Graduação - Área de Farmacologia da FOP/UNICAMP, em especial à Biomédica ÍRIA MARISA G. DO AMARAL, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos meus amigos do serviço de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial do HMCP-PUCCAMP, Dr. FRANCISCO CLARO DE OLIVEIRA, Dr. JOÃO BAPTISTA FRANCHI, Dr. RUDINEY J. DARUGE, Dr. LUIZ A. TOLEDO, Dra. MARIA B. N. PACHOAL, Dr. MARCO A. BARROCA e Dr. JOSÉ I. TOLEDO, pelo senso de equipe demonstrado.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro (Bolsa de Estudos) prestado, que foi de suma importância na elaboração deste trabalho.

E, finalmente os agradecimentos às pessoas que direta ou indiretamente contribuíram na elaboração e confecção deste trabalho.

**LISTA DE TABELAS**

- TABELA 01 - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Controle-C), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 24
- TABELA 02 - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D<sub>1</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 25
- TABELA 03 - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D<sub>2</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 26
- TABELA 04 - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 27
- TABELA 05 - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>1</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 28
- TABELA 06 - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>2</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 29
- TABELA 07 - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 30

TABELA 08 - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Controle-C), no início, após 24 horas e após 120 horas.....	31
TABELA 09 - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D <sub>1</sub> ), no início, após 24 horas e após 120 horas.....	32
TABELA 10 - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D <sub>2</sub> ), no início, após 24 horas e após 120 horas.....	33
TABELA 11 - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D <sub>3</sub> ), no início, após 24 horas e após 120 horas.....	34
TABELA 12 - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B <sub>1</sub> ), no início, após 24 horas e após 120 horas.....	35
TABELA 13 - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B <sub>2</sub> ), no início, após 24 horas e após 120 horas.....	36
TABELA 14 - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B <sub>3</sub> ), no início, após 24 horas e após 120 horas.....	37

TABELA A - Análise de variância dos dados da AST apresentados na tabelas 01, 02, 03, 04, 05, 06 e 07.....	39
TABELA B - Teste de Tukey para as médias de AST em cada grupo.....	39
TABELA C - Teste de Tukey para as médias de AST para cada grupo no período de 0 (zero) hora.....	40
TABELA D - Teste de Tukey para as médias de AST para cada grupo no período de 24 horas.....	40
TABELA E - Teste de Tukey para as médias de AST para cada grupo no período de 120 horas.....	41
TABELA F - Teste de Tukey para as médias de AST, dentro dos grupos nos períodos de 0 (zero) hora, 24 horas e 120 horas.....	41
TABELA G - Análise de variância dos dados da ALT apresentados nas tabelas 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14.....	43
TABELA H - Teste de Tukey para as médias de ALT em cada grupo.....	43

TABELA I - Teste de Tukey para as médias de ALT para cada grupo no período de 0 (zero) hora..... 44

TABELA J - Teste de Tukey para as médias de ALT para cada grupo no período de 24 horas..... 44

TABELA K - Teste de Tukey para as médias de ALT para cada grupo no período de 120 horas..... 45

TABELA L - Teste de Tukey para as médias de ALT, dentro dos grupos nos períodos de 0 (zero) hora, 24 horas e 120 horas..... 45



## LISTA DE FIGURAS

- GRÁFICO 01 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Controle-C), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 24
- GRÁFICO 02 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D<sub>1</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 25
- GRÁFICO 03 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D<sub>2</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 26
- GRÁFICO 04 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Dizepam-D<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 27
- GRÁFICO 05 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>1</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 28

GRÁFICO 06 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>2</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 29

GRÁFICO 07 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 30

GRÁFICO 08 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade da ALT, em U/ml no soro (Grupo Controle-C), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 31

GRÁFICO 09 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D<sub>1</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 32

GRÁFICO 10 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D<sub>2</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 33

GRÁFICO 11 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Diazepam-D<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 34

GRÁFICO 12 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>1</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 35

GRÁFICO 13 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>2</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 36

GRÁFICO 14 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupo Buspirona-B<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas.

GRÁFICO 15 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade da AST, em U/ml no soro (Grupos - C, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 38

GRÁFICO 16 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro (Grupos - C, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas..... 38

## SUMÁRIO

<b>1. RESUMO</b>	<b>01</b>
<b>2. INTRODUÇÃO</b>	<b>02</b>
<b>3. REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA</b>	<b>08</b>
<b>4. PROPOSIÇÃO</b>	<b>16</b>
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b>	
<b>1. Animais</b>	<b>17</b>
<b>2. Preparo Experimental dos Animais</b>	<b>17</b>
<b>3. Reação de Transaminação</b>	<b>18</b>
<b>4. Técnica de Doseamento das Transaminases</b>	<b>18</b>
<b>5. Curva de Calibração</b>	<b>20</b>
<b>6. Métodos Estatísticos</b>	<b>21</b>
<b>6. SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA</b>	<b>22</b>
<b>7. RESULTADOS</b>	<b>24</b>
<b>8. DISCUSSÃO</b>	<b>47</b>
<b>9. CONCLUSÕES</b>	<b>52</b>
<b>10. SUMMARY</b>	<b>53</b>
<b>11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>54</b>

## **RESUMO**

## RESUMO

O autor estudou comparativamente a toxicidade exercida pelo diazepam e pela buspirona, no processo de regeneração hepática em 42 ratos parcialmente hepatectomizados.

Os animais receberam diazepam e buspirona (0,42; 0,85 e 1,7 mg/Kg/dia) i.p. por um período de cinco dias a contar da hepatectomia parcial, bem como foram dosadas as atividades da aspartato aminotransferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) nos períodos de 0 (zero), 24 e 120 horas.

Os resultados revelaram médias de atividade de AST maiores para os animais dos grupos tratados no período de 24 horas e menores para o período de 120 horas quando comparadas com o grupo controle, e médias de atividade de ALT maiores para os grupos tratados no período de 24 horas quando comparadas com o grupo controle.

Palavras Chave - 1. Drogas - Toxicologia, 2. Diazepam, 3. Psicofarmacologia,

4. Testes funcionais hepáticos.

## **INTRODUÇÃO**

## INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade têm sido usadas poções para provocar o sono. A história e o folclore têm fornecido relatos dos usos romântico e sinistro do láudano, bebidas alcoólicas e várias ervas para produzir o torpor, durante o qual intrigas, adultérios ou transformações mágicas poderiam ocorrer (Gilman et al, 1991). As poções eram usadas também para sedação e hipnose, mas seus efeitos eram por demais imprevisíveis para deixar um legado à medicina moderna. O primeiro agente a ser especificamente introduzido como sedativo e, por pouco tempo, como um hipnótico, foi o brometo (1853 a 1864). Apenas mais quatro drogas sedativo-hipnóticas (hidrato de cloral, paraldeído, uretano e sulfonal) estavam em uso antes de 1900. O barbital foi introduzido em 1903 e o fenobarbital em 1912. Seu sucesso originou a síntese e testes de mais de 2.500 barbituratos, dos quais aproximadamente 50 eram comercialmente distribuídos. Os barbituratos ocuparam o cenário de modo tão dominante que menos de uma dúzia de outros sedativos-hipnóticos foram comercializados com sucesso antes de 1960, e várias drogas, outrora populares, caíram no esquecimento.

A separação parcial das propriedades sedativo-hipnóticas das anticonvulsivantes, incorporadas no fenobarbital, levaram a pesquisas por agentes com efeitos mais seletivos sobre a função do sistema nervoso central (SNC). Como resultado, anticonvulsivantes, relativamente não-sedativos, notavelmente a fenitoína e a trimetadiona, foram desenvolvidos nos fins da década de 30 e começo da década de 40. O advento da clorpromazina e meprobamato no início da década de 50, com seus efeitos sedativos sobre os animais, e o desenvolvimento de métodos mais sofisticados para a avaliação dos efeitos comportamentais das drogas, possibilitaram, em 1957, a síntese do clordiazepóxido por Steinbach e a descoberta de um padrão peculiar de ações por Randall (Usdin et al, 1982). Com a introdução na clínica médica em 1961, o clordiazepóxido inaugurou a era dos benzodiazepínicos; tendo sido sintetizados mais de 3000 compostos, dos quais mais de 120 testados para a atividade biológica e cerca de 35 estão em uso clínico em várias partes do mundo.

Embora os benzodiazepínicos exerçam no uso clínico efeitos qualitativamente semelhantes, diferenças quantitativamente importantes nos seus espectros farmacodinâmicos e



propriedades farmacológicas levaram a vários padrões de aplicação terapêutica. Existem razões para acreditar-se que vários mecanismos de ação distintos contribuem em graus variáveis para os efeitos sedativo-hipnóticos, de relaxamento muscular, ansiolíticos e anticonvulsivantes dos benzodiazepínicos.

Todos os efeitos dos benzodiazepínicos, virtualmente, resultam de suas ações sobre o SNC. Os mais proeminentes destes efeitos são a sedação, hipnose, diminuição da ansiedade, relaxamento muscular, amnésia anterógrada e atividade anticonvulsivante. Os efeitos dos benzodiazepínicos no alívio da ansiedade podem ser evidenciados com facilidade em animais de laboratórios. Nos procedimentos de punição, os benzodiazepínicos reduzem bastante os efeitos supressores da punição. Os efeitos positivos neste modelo experimental não são vistos com os antidepressivos e os antipsicóticos.

As dificuldades na avaliação da eficácia terapêutica dos agentes psicotrôpicos no ser humano são especialmente grandes no caso dos ansiolíticos, em grande parte por causa da contribuição de fatores não-farmacológicos para o tratamento da ansiedade, razão pela qual são obtidos resultados muito díspares. Muitos estudos mostraram que os benzodiazepínicos são mais eficazes que placebo no tratamento de vários grupos de pacientes neuróticos ansiosos, entretanto, resultados negativos também já foram descritos (Klein et al, 1980; Rosenbaum, 1982). As ações depressoras centrais do diazepam e de outros benzodiazepínicos nos reflexos espinhais são medidas, em parte, pelo sistema reticular do tronco cerebral. Como o meprobramato e os barbitúricos, o clordiazepóxido deprime a duração da pós-descarga elétrica no sistema límbico, na região septal, nas amígdalas, no hipocampo e no hipotálamo (Gilman et al, 1991). Virtualmente, todos os benzodiazepínicos elevam o limiar convulsivo e são anticonvulsivantes.

Além disso, existe muito interesse nos efeitos dos benzodiazepínicos na neurotransmissão no SNC, que é mediada pelo ácido gama-aminobutírico (GABA). Esta pesquisa foi estimulada por observações eletrofisiológicas da potencialização dos efeitos inibidores do GABA pelos benzodiazepínicos, bem como pela descoberta de locais de ligações específicas para os benzodiazepínicos em várias regiões cerebrais. Acredita-se que estes locais existam em um complexo macromolecular que incluem receptores de GABA e o canal de cloreto. A ligação de

benzodiazepínicos pode ser modulada pelo GABA e por cloretos. Mesmo após solubilização e substancial purificação dos locais de ligação já se constatou que a imidazodiazepina e compostos beta-carbônicos conseguem inibir competitivamente a ligação e as ações biológicas dos benzodiazepínicos em concentrações na faixa terapêutica. Os benzodiazepínicos também reduzem a excitabilidade de alguns neurônios por ações que não envolvem o GABA nem alterações na permeabilidade da membrana ao cloreto. Assim sendo, outros mecanismos celulares, além da facilitação da condutância de cloreto mediado pelo GABA, contribuem para os efeitos comportamentais dos benzodiazepínicos (Skolnick e Paul, 1982; Study e Barker, 1982; Malick et al, 1983; Biggio e Costa, 1988; Polc, 1988).

Os benzodiazepínicos podem apresentar reações tóxicas e efeitos colaterais. Os efeitos colaterais esperados de depressão do SNC (sonolência e ataxia) são extensões das ações farmacológicas desses agentes.

No caso do diazepam, podem ser esperados efeitos ansiolíticos em concentrações sanguíneas de 300 a 400 ng/ml, enquanto alguns efeitos sedativos e comprometimento psicomotor começam em concentrações semelhantes e intoxicação evidente do SNC pode ser esperada em concentrações superiores a 900 a 1.000 ng/ml (Morselli, 1977).

De modo geral, os efeitos tóxicos clínicos dos benzodiazepínicos são mínimos. Alguns pacientes apresentam ganho ponderal que pode ser resultado do melhor apetite. Entre outras reações tóxicas encontradas com clordiazepóxido estão erupções cutâneas, náuseas, cefaléia, comprometimento da atividade sexual, vertigens e tonturas. Há relatos muito raros de agranulocitose e reações hepáticas. Além disso, já foram descritas irregularidades menstruais e ausência de ovulação em mulheres em uso de benzodiazepínicos. Algumas mortes já foram descritas com doses superiores a 700 mg de diazepam ou clordiazepóxido (Gilman et al, 1991).

Um novo e promissor agente ansiolítico, a buspirona, um agente psicotrópico da série da azaspirodecanodiona, foi preparada por Allen et al (1972). A buspirona, desenvolvida originalmente como antipsicótico potencial, tem um padrão de propriedades farmacológicas que é diferente daquele dos benzodiazepínicos, incluindo a capacidade de influenciar na ligação dos benzodiazepínicos ou do GABA. A buspirona aparece interagindo com uma variedade de sistemas

neuroquímicos do cérebro incluindo dopaminérgicos, serotoninérgicos, gabaérgicos, colinérgicos e noradrenérgicos. Uma recente revisão das propriedades bioquímicas da bupirona sugere que seu mecanismo ansiolítico possua muitas facetas.

A bupirona possui atividade anticonvulsivante, com mínima interação com outros depressores do SNC, e não causa relaxamento muscular. Sua atividade tranquilizante é caracterizada pela habilidade em: (1) acalmar macacos Rhesus agressivos; (2) bloquear a resposta condicionada em ratos; (3) inibe a resposta ao choque induzido em ratos e (4) atenua a supressão do choque induzido pelo álcool em ratos (Eison , 1984).

Estudos clínicos mostram que a bupirona é um ansiolítico eficaz que provoca sedação relativamente mínima e também parece existir pequeno risco de provocar dependência ou tolerância (Rickels et al, 1982).

Estes resultados são similares aos encontrados no primeiro estudo controlado dos efeitos ansiolíticos da bupirona reportado pelo Out Patient Psychopharmacology Research Group.

Muitos são os trabalhos que procuram avaliar os efeitos adversos e as reações tóxicas dos medicamentos no organismo. Para tanto são utilizados desde parâmetros subjetivos até os mais sofisticados métodos bioquímicos.

Devido à sua importância como órgão metabolizador de drogas, através dos seus sistemas enzimáticos, e como sintetizador de componentes orgânicos de importância vital, o fígado tem sido muito utilizado como modelo experimental onde são avaliados os mais variados aspectos de sua morfologia e seus processos fisiológicos e bioquímicos. As suas funções básicas podem ser divididas em:

- 1) Funções vasculares, para armazenamento e filtração do sangue.
- 2) Função secretora, para a secreção da bile no interior do trato gastrintestinal.
- 3) Funções metabólicas, implicadas na maior parte dos sistemas metabólicos do organismo.

Dentre as funções metabólicas podemos destacar o metabolismo dos carboidratos, dos lipídeos e das proteínas. Através dos seus sistemas enzimáticos especializados naturais, esse órgão desempenha, ainda, importantes funções no metabolismo de fármacos.

O meio químico muito ativo do fígado é bem conhecido por sua capacidade de desintoxicar ou excretar na bile, muitas medicações diferentes, incluindo as sulfonamidas, as penicilinas e a eritromicina. De forma semelhante, vários hormônios diferentes são alterados quimicamente ou secretados, incluindo a tireoxina e praticamente todos os esteróides, como o estrógeno, o cortisol e a aldosterona.

A maioria das substâncias medicamentosas é metabolizada pelas enzimas microsômicas hepáticas.

Devemos salientar que se o organismo dependesse apenas dos mecanismos de excreção para eliminar os medicamentos, os compostos lipossolúveis seriam retidos quase que indefinidamente.

Os sistemas enzimáticos concernentes a biotransformação de muitos medicamentos, hormônios esteróides e lipídeos estão localizados no retículo endoplasmático liso hepático (ergastoplasma). A atividade de enzimas metabolizadoras de substâncias nos microsomas hepáticos, bem como a estrutura e a quantidade do retículo de superfície lisa, são influenciadas marcadamente pela administração de várias substâncias e hormônios, bem como pela idade, sexo, raça, temperatura, estado nutricional e estado geral de saúde do animal. Tais influências foram observadas por Remmer e Merker (1963), que após a administração de repetidas doses de fenobarbital, em coelhos, verificaram um aumento quantitativo do retículo endoplasmático liso das células do fígado, e aumento da atividade das enzimas oxidantes de drogas.

Além das funções já descritas, o fígado apresenta também um alto poder de regeneração. Essa propriedade hepática tem sido explorada pelos pesquisadores, principalmente para estudar a influência de fármacos sobre os processos envolvidos na regeneração.

Assim, Higgins e Anderson (1931), desenvolveram, em ratos, uma técnica de hepatectomia parcial que consiste na extirpação dos lóbulos central e lateral esquerdo do órgão, o que corresponde a aproximadamente 2/3 da massa hepática total. Já em 1963, como se depreende do

trabalho de Bucher, essa técnica permitiu o desenvolvimento e a realização de sofisticados estudos de elevado nível científico, abordando os mais variados aspectos da sequência de eventos que ocorrem no fígado em regeneração. A avaliação da capacidade regenerativa do fígado, nos seus aspectos morfológicos e funcionais, tem sido, até hoje, objeto de muitos estudos, notadamente quando os animais utilizados nos experimentos estão recebendo fármacos. Esses trabalhos revestem-se de grande importância, pois, como já nos referimos anteriormente, os sistemas enzimáticos do fígado são responsáveis pela biotransformação das drogas e por essa razão podem sofrer alterações quando sob a influência das mesmas.

Portanto, por se tratar de um órgão de suma importância na biotransformação de medicamentos e apresentar um alto poder de regeneração, o fígado tem sido alvo de muitos estudos.

## **REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA**

## REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA

Os ansiolíticos se constituem em um grupo de drogas largamente utilizados e conseqüentemente muito pesquisado. O mecanismo de ação, alterações enzimáticas e efeitos adversos têm sido amplamente pesquisados, fornecendo subsídios para um uso terapêutico mais seguro e eficiente.

Riblet et al (1982), relataram em seu trabalho de revisão que a buspirona é um ansiolítico efetivo, o qual não interage com receptores benzodiazepínicos, nem interfere na ligação ou incorporação do GABA, apresentando porém, interação com o sistema dopaminérgico com propriedades agonistas e antagonistas.

Kolasa et al (1982), observaram que a buspirona (20 mg/Kg-vo) em ratos produziu um decréscimo dose-dependente no nível de acetilcolina no núcleo estriado e tubérculo olfatório, enquanto outras regiões do cérebro não foram afetadas. A buspirona não modificou a acetilcolintransferase ou a atividade da acetilcolinesterase e foi fraca no deslocamento [<sup>3</sup>H] de dexatimida dos sítios de ligação muscarínicos específicos.

Benesová et al (1994), estudaram os efeitos da administração de diazepam (10mg/Kg-sc) em ratos recém-nascidos e concluíram que o diazepam acarretou alterações transicionais de neurotransmissões monoamínicas no hipotálamo (S-HT) e núcleo estriado (DA), alterações secundárias nas funções reprodutivas (ciclos de estrógeno irregular) e depressão estatisticamente significativa da resposta imune.

Livezey et al (1985), verificaram que a administração de diazepam (5 mg/Kg-sc) em ratas prenhas, na última semana de gestação, acarretava nos filhotes um predomínio das SWSI (sono de ondas lentas superficial) quando comparados com o grupo controle que apresentou predomínio das SWSII (sono de ondas lentas profundo).

Geller e Hartmann (1982), comprovaram comparativamente em estudos com ratos e macacos os quais receberam buspirona (de 0,5 a 5 mg/Kg-im) ou diazepam (de 0,5 a 5 mg/Kg-im), uma equipotência da atividade ansiolítica entre as duas drogas. Tanto o diazepam quanto a buspirona

levaram à atenuação do conflito, em animais treinados em processos experimentais de indução de conflito, como também interromperam a resposta de anulamento.

A atividade ansiolítica e os efeitos adversos da buspirona e diazepam têm sido avaliados em pacientes psiquiátricos.

Goldberg e Finnerty (1979) em um estudo duplo cego entre buspirona (20 mg/dia-vo) e diazepam (20 mg/dia-vo) com 56 pacientes psiquiátricos ambulatoriais com diagnóstico primário de neurose ansiosa, verificaram que a buspirona foi tão efetiva quanto o diazepam como agente ansiolítico, produzindo menos efeitos adversos.

Feighner et al (1982) estudaram o efeito antidepressivo e a segurança ansiolítica da buspirona (15 mg/dia-vo) quando comparada com diazepam (15 mg/dia-vo) em 100 pacientes, e verificaram que as duas drogas foram equivalentes em aliviar sintomas de ansiedade e depressão e que efeitos colaterais, tais como sedação e sonolência, foram significativamente mais frequentes e severos com o diazepam. Os autores concluíram que a buspirona pode ser particularmente indicada para pacientes com depressão associada.

Autores como Newton et al (1982) também avaliaram, em trabalhos duplo cego entre buspirona (20 mg/dia-vo) e diazepam (20 mg/dia-vo) atividade ansiolítica das referidas drogas, bem como seus efeitos adversos, concluindo que a eficácia de ambas como agente ansiolítico foi similar; o diazepam provocou significativamente mais sedação, letargia e depressão, enquanto que a buspirona provocou mais nervosismo, cefaléia e tontura.

Goldberg e Finnerty (1982) e Rickels et al (1982) realizaram estudos duplo cego entre buspirona (20 mg/dia-vo) e diazepam (20 mg/dia-vo) em pacientes ambulatoriais com ansiedade moderada e severa. Os resultados foram avaliados na escala de depressão e ansiedade de Hamilton Rating, no SCL-56, no perfil de estado de humor e nas escalas de Covi e Raskin, indicando que a buspirona aliviou significativamente mais a ansiedade e a depressão associada quando comparada com o diazepam, bem como apresentou menor grau de sedação.

A ação teratogênica de diversos fármacos tem sido exaustivamente estudada por diversos autores. Os resultados decorrentes da ação das drogas durante o período embrionário apresentam complexidade e frequência variáveis.



Muitas vezes os achados são macroscópicos, mas a não visualização dos mesmos não significa que não possam ocorrer alterações microscópicas ou enzimáticas.

Widdowson (1978), relatou que após a administração de papaína (7 mg/dia-ip) em ratos, por um período de 28 dias, encontrou redução no tamanho do corpo, cauda, ossos longos e músculos anexos aos ossos. Os rins, baço, fígado e pâncreas apresentaram-se constantemente dilatados, enquanto que o peso do coração, pulmões e cérebro não sofreram alterações.

Johnson (1978), constatou que a administração de papaína (5 mg/dia-ip) em camundongos acarretou reduções nos comprimentos da tibia, úmero e ulna.

Devi e Singh (1979), administraram (750 mg/Kg-vo) de papaína em ratas prenhas, entre o 8º e o 17º dia de gestação e, constataram no cérebro de fetos de 21 dias, a presença de áreas de hemorragia, alterações na citoarquitetura do córtex, e diminuição do número de neurônios e elementos neurológicos.

Mehanny et al (1991), estudaram o efeito teratogênico da cocaína (40 mg/Kg-i.v.) e diazepam (20 mg/Kg-vo) em camundongos prenhas, entre o 7º e o 17º dia de gestação, constatando que quando as duas drogas foram administradas conjuntamente houve redução estatisticamente significativa no peso e comprimento fetal, aumento da incidência de ossificação incompleta dos ossos do crânio, retardo da ossificação das patas, hidronefrose e criptorquidismo.

Miller e Becker (1975), realizaram um estudo duplo cego entre diazepam (de 50 a 500 mg/Kg vo) e difenilidantoína (de 45 a 125 mg/Kg vo) em ratas prenhas, entre o 6º e o 15º dia de gestação, e concluíram que doses equivalente das duas drogas provocaram um aumento significativo de fissuras palatinas, mortes intra-uterinas (reabsorção) e diminuição do peso corporal, quando comparadas com o grupo controle, ocorrendo inclusive similaridade entre os achados dos grupos tratados.

Hernández-Alvarez et al (1991), administraram diazepam (2,7 mg/Kg-ip) em ratas prenhas, entre o 6º e o 17º dia de gestação, e verificaram que não houve diferença estatisticamente significativa no tamanho da ninhada entre o grupo controle e grupo diazepam, não foi observada nenhuma mal formação congênita externa, embora 3 (três) animais tenham morrido logo após o nascimento, apresentando sintomas de depressão neurológica e respiratória. A análise dos ovários

dos animais tratados com diazepam revelaram um aumento no número de folículos primários e secundários e uma diminuição no número de folículos maduros, bem como modificações na histoarquitetura do corpo lúteo e um aumento nas células luteínicas.

Kai et al (1990), verificaram que a administração de buspirona (2,12 e 75 mg/Kg-vo) em ratas prenhas, entre o 7º e o 17º dia de gestação, bem como nos filhotes a partir do nascimento até a fase adulta, levou a uma diminuição do peso corporal nas fêmeas prenhas, decorrente de uma redução do consumo de alimentos, inibição do crescimento fetal representado por diminuição de peso, distância crânio-caudal e comprimento da cauda, retardo da ossificação de vértebras cervicais, membros anteriores, posteriores e costelas.

O que já ficou suficientemente claro, é que de alguma forma a buspirona e o diazepam interferem com o crescimento de tecidos chamados duros. Embora a diferenciação celular imprima características próprias aos tecidos, é sabido que os mecanismos básicos da fisiologia celular são muito parecidos para os diversos tecidos. Assim sendo, o tecido hepático, dotado de alto poder de regeneração e crescimento, tem sido muito estudado sob a ação de fármacos, principalmente após o desenvolvimento da técnica de hepatectomia parcial idealizada por Higgins e Anderson (1931).

Bucher (1963), relatou em seu trabalho de revisão que quase imediatamente após a extirpação de aproximadamente 2/3 do fígado de ratos, uma série de alterações morfológicas aparecem nas células parenquimais e, progridem da periferia para o centro dos lóbulos. Simultaneamente ocorrem alterações bioquímicas que incluem infiltração gordurosa, desaparecimento do glicogênio, incremento na taxa de biossíntese dos constituintes protoplasmáticos e aumento da atividade enzimática. Por volta da 6ª hora após a operação, ocorre aumento da síntese de RNA e proteínas. De maneira análoga, a síntese de DNA, que é insignificante no fígado adulto normal, apresenta um incremento por volta da 16ª e 18ª hora após a operação, com um pico ao redor da 25ª hora.

Garrido (1968), ressalta em seu trabalho, que muitas vezes a regeneração hepática pode ser prejudicada pela proliferação desordenada de células mesenquimais ou sinusoidais, provocando hipertensão portal, fato que ocorre em diversos tipos de hepatite. A multiplicação dos hepatócitos facilita a distorção da arquitetura hepática, fazendo-se em cordões de 2 ou 3 células

apertadas, em lugar de cordões unicelulares do fígado normal adulto. Isto significa que muitas vezes, hepatomegalia, esplenomegalia, hemorragias digestivas, ascite e até a conseqüente necrose hepatocelular, depende mais de uma regeneração hepática anormal do que da simples persistência do agente etiológico primário de ação necrosante.

Mattos Filho (1976), observou que o aumento do teor proteico em fígados de ratos submetidos a hepatectomia parcial foi elevado no 5º dia de experimento, assim permanecendo até o 30º dia. Observou também que enquanto a recuperação ponderal do fígado hepatectomizado ocorreu precoce e rapidamente, atingindo alto nível nos primeiros 5 dias de observação, a regeneração funcional ocorreu de maneira mais lenta.

Augustine e Swick (1980), observaram que embora as taxas de síntese proteica nos animais submetidos a hepatectomia parcial, ou laparotomia, foram mais elevadas quando comparadas com animais controle não operados, elas não foram diferentes entre os dois grupos operados. Conseqüentemente, as alterações na taxa da síntese proteica provavelmente são decorrentes do trauma cirúrgico.

A composição lipídica e a permeabilidade das membranas plasmáticas tem sido estudadas em diferentes estágios do fígado em regeneração (4, 15 e 24 horas após a hepatectomia parcial). Após a hepatectomia parcial ocorre um aumento na permeabilidade das membranas plasmáticas, como também uma redução na proporção colesterol/fosfolípideo das mesmas. Isto levou Bruscalupi e cols (1980), a sugerirem que as modificações da membranas plasmáticas podem estar relacionadas com os processos proliferativos.

Um aumento (5 a 6 vezes) da concentração do mRNA do fibrinogênio, e uma queda da concentração do mRNA da albumina, nas primeiras 24 horas, foi notada tanto no grupo de animais submetidos a hepatectomia parcial, quanto no grupo controle submetido a laparotomia. Isto levou Princen e cols (1982), a sugerirem que tanto a síntese de albumina, como a síntese de fibrinogênio, após hepatectomia parcial, são reciprocamente reguladas ao nível do mRNA, e representam um período de resposta aguda não específica ao trauma cirúrgico.

Bengmark et al (1968), trabalhando com ratos machos, sacrificados entre 2 e 18 meses após hepatectomia parcial, não encontraram diferenças significantes no que diz respeito ao

corpo, fígado e peso do baço, bem como não encontraram diferenças na concentração de nitrogênio ou atividades da transaminase glutâmica oxalacética e transaminase glutâmica pirúvica no fígado.

Fígados e rins obtidos de fetos de ratos ao 20º dia de gestação cujas mães receberam papaina oralmente (750 mg/Kg-vo) ou (375 mg/Kg-ip), entre o 8º e o 17º dia de vida intra-uterina, foram processados e examinados histologicamente. Com base nesses estudos Singh e Devi (1980), puderam evidenciar a perda da citoarquitetura do fígado, degeneração dos cordões do fígado, dilatação dos sinusóides, focos de hemorragia, vaso-dilatação e ruptura do revestimento endotelial. Os rins aumentaram de volume, foram detectadas áreas de hemorragias subcapsular e profundas, os glomérulos estavam atrofiados e enrugados, e os túbulos apresentaram marcada degeneração.

Márquez-Orozco et al (1993), administraram diazepam (2,7 mg/Kg-sc) em ratas prenhas, entre o 6º e o 15º dia de gestação, e avaliaram os efeitos da droga nos hepatócitos. Foram observados hepatócitos com grande circunferência nuclear e grânulos de intercromatina escassos e pobremente manchados, retículos endoplasmáticos rugosos com cisternas distribuídas irregularmente no citoplasma, de diversos tamanhos e com poucos ribossomos fixados em suas membranas. Entre as cisternas do retículo endoplasmático rugoso foram observadas mitocôndrias, polirribossomas e grânulos glicogênicos. Grânulos de glicogênio também foram observados entre as organelas citoplasmáticas, principalmente ao redor de grandes vacúolos contendo pouco material eletrodense e limitado por uma membrana bem definida. Mitocôndrias foram encontradas em maior número nos hepatócitos fetais do grupo tratado, porém suas morfologias foram similares ao grupo controle. Os canaliculos biliares apresentaram um menor número de vilosidades e os eritroblastos eram atipicamente condensados, tanto que a cariolinfa apresentou-se mais abundante.

Márquez-Orozco et al (1992), realizaram um estudo com diazepam (2,7 mg/Kg-sc) em ratas prenhas, entre o 6º e o 17º dia de gestação, e observaram em cortes histológicos do encéfalo (córtex) diminuição no número de terminações dos dendritos e orientação anormal dos mesmos, neurônios piramidais distribuídos em grumos densos cercados por grande número de células gliais espessas, aumento do número de vasos sanguíneos e redução na espessura do córtex nos animais do grupo tratado.

Com relação às alterações enzimáticas, muitos são os trabalhos que as avaliam após a hepatectomia parcial, fornecendo importantes dados referentes à recuperação funcional do fígado em regeneração.

Nakata et al (1985), observaram uma redução na atividade da timidilato sintetase e timidinaquinase em fígados de ratos em regeneração, quando os animais foram tratados com antagonistas  $\alpha$ -adrenoceptor (fenoxibenzamina e fentolamina) ou bloqueadores neuronais adrenérgicos (guanetidina e reserpina). Tais reduções não foram observadas administrando-se nos animais um antagonista  $\beta$ -adrenoceptor (propranolol) ou um anticolinérgico (nitrito de metil atropina).

Schofield et al (1986), verificaram que as atividades da piruvatoquinase e piruvato desidrogenase diminuíram após a hepatectomia parcial em ratos, e sugeriram que os mecanismos envolvidos no controle da atividade das enzimas são similares à aqueles encontrados nos ratos intactos.

Tabucchi et al (1987), observaram os efeitos da hepatectomia parcial (em ratos) em relação a atividade da L-treonina desaminase, L-treonina aldolase e L-treonina desidrogenase. Os resultados revelaram que as atividades das duas primeiras enzimas permanecem constantes nas primeiras 4 horas, aumentando após 48 horas, enquanto a da L-treonina desidrogenase aumentou entre 12 e 48 horas.

Tsukamoto e Kojo (1987), demonstraram que após a hepatectomia parcial e administração de bloqueadores do canal de cálcio (verapamil, diltiazem e nifedipina), ocorrem reduções nas atividades da timidilato-sintetase e timidina quinase, bem como uma redução no conteúdo de DNA, em fígados em regeneração por 24 horas.

Kozłowski e Mattos Filho (1995), analisaram em ratos parcialmente hepatectomizados, os quais receberam terfenadina (2 mg/Kg-ip) ou cimetidina (20 mg/Kg-ip), a atividade da  $\delta$ -glutamil-transferase ( $\delta$ -GT) e verificaram que a terfenadina induziu a maior atividade da  $\delta$ -GT no soro de ratos, 360 h após hepatectomia parcial.

Araújo (1992) avaliou as atividades da AST e ALT no soro do sangue de ratos parcialmente hepatectomizados submetidos a tratamento com cetoconazol (20 mg/Kg-ip), e verificou

que este antifúngico imidazólico não induziu a alterações estatisticamente significantes nos níveis de atividade enzimática da AST e da ALT.

Assim, fica bastante evidenciado que o fígado, por ser um órgão intimamente relacionado com o metabolismo dos fármacos, está sujeito às ações dos mesmos podendo sofrer alterações importantes nos seus processos metabólicos, que podem resultar em incremento ou diminuição de suas atividades metabólicas, que eventualmente podem ser altamente comprometedoras para o organismo.

**PROPOSIÇÃO**

## PROPOSIÇÃO

Baseando-nos em estudos realizados em ratos, cujas mães receberam diazepam ou buspirona, no período de gestação (6º ao 17º dia), ficou evidente que de alguma forma essas drogas interferiram no crescimento e desenvolvimento do tecido ósseo. Com base nesses estudos ocorreu-nos avaliar comparativamente a possível toxicidade do diazepam e da buspirona no crescimento do tecido hepático.

Como o fígado é um órgão com um alto poder de regeneração, tanto no aspecto morfológico quanto no aspecto funcional, foi considerado o tecido hepático como o mais indicado para a realização deste trabalho.

Para tanto nos propusemos a avaliar no fígado de ratos, em regeneração, a possível interferência do diazepam e da buspirona.

1. Na atividade da aspartato aminotransferase (AST).
2. Na atividade da alanina aminotransferase (ALT).



## **MATERIAL E MÉTODOS**

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1) Animais utilizados

Durante os experimentos foram utilizados 42 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), Wistar, SPF, machos, criados em condições padronizadas desde o nascimento, fornecidos pelo Centro de Animais de Laboratório da UNICAMP. No início dos experimentos os animais estavam com 60 dias de idade e pesos variando entre 180 e 220 gramas.

Os animais foram tratados com ração Labina (Purina Nutrientes Ltda.), granulada, para animais de laboratório e receberam água "ad libitum".

### 2) Preparo experimental dos animais

#### 2.1) Colheita de sangue para doseamento das transaminases

Após os animais terem sido anestesiados com éter etílico, realizavam-se as colheitas de sangue. Para tanto, a cauda do animal era mergulhada em banho maria (40°C), por três minutos, para que houvesse vasodilatação. Decorrido esse período de tempo, a cauda do animal era retirada do banho, secada (a fim de se evitar hemólise do sangue colhido em contato com a água) e seccionada em sua porção terminal.

A cauda do animal era colocada em um tubo de ensaio a fim de aparar o sangue, o qual fluía por gravidade.

#### 2.2) Técnica de hepatectomia parcial

Anestesiados com éter etílico, os animais foram submetidos à tricotomia da região abdominal, que após esse ato foi desinfetada com uma solução de PVPI. Uma vez preparados, os animais foram submetidos aos seguintes passos para a realização da hepatectomia parcial.

**2.2.1) Extrusão dos lóbulos hepáticos** - após incisão ventral mediana de 3 a 4 cm, a partir da apófise xifóide do esterno, efetuou-se, através de compressão da região abdominal, a extrusão

dos lóbulos hepáticos mediano e lateral esquerdo, permanecendo na cavidade abdominal, os lóbulos lateral direito e pequeno caudado (“lóbulos residuais”).

**2.2.2) Ligamento e excisão dos lóbulos hepáticos** - após extrusão dos lóbulos mediano e lateral esquerdo, procedeu-se à secção dos ligamentos suspensores, ligadura dos lóbulos com fio de algodão e posterior extirpação (“lóbulos retirados”).

**2.2.3) União dos bordos da incisão abdominal** - foi realizada com fio de algodão, sutura da musculatura em primeiro plano e da pele em segundo plano, com pontos contínuos. O material e o instrumental utilizado foi submetido à esterilização em autoclave.

### **3) Reação de Transaminação**

A transaminação é uma reação reversível de desaminação e aminação, na qual o grupo amina de um aminoácido é reversivelmente transferido a um alfa-cetoácido e vice-versa. A enzima que cataliza este processo é uma transferase, denominada transaminase.

Neste trabalho foi utilizado para doseamento das transaminases, o método de REITMAN-FRANKEL.

### **4) Técnica de doseamento da transaminase glutâmina oxalacética (TGO-AST) e transaminase glutâmina pirúvica (TGP-ALT)**

- rotula-se os tubos com “O” para TGO e “P” para TGP.
- coloca-se 0,5 ml de substrato TGO para o tubo “O”, e 0,5 ml de substrato TGP para o tubo “P”.
- aquece-se os dois tubos em banho-maria (37°C) durante 2 minutos.
- adiciona-se 0,2 ml da amostra para o tubo “O”, 0,1 ml da amostra para o tubo “P” e homogeneiza-se bem.
- incuba-se à 37°C por 30 minutos.
- adiciona-se 0,5 ml de reagente de cor a cada tubo e homogeneiza-se bem.

- deixa-se em repouso durante 20 minutos.
- adiciona-se 5,0 ml de hidróxido de sódio 0,4N a cada tubo e homogeneiza-se bem.
- deixa-se em repouso por 5 minutos.
- efetua-se as leituras fotométricas em 505 nm.
- os resultados são calculados usando uma curva de calibração.

#### **4.1) Preparo dos Reagentes para doseamento da "TGO"**

**4.1.1) Tampão de fosfatos de pH 7,4.** Dissolve-se 11,92 g de fosfato dibásico de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{HPO}_2$ ) e 2,18 g de fosfato monobásico de potássio anidro ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) em água destilada, e dilui-se para 1 litro. Guarda-se no refrigerador.

**4.1.2) Substrato de TGO.** Pesa-se 0,0584 g de ácido alfa-cetoglutâmico e 5,32 g de ácido DL-aspartico e coloca-se num Becker de 250 ml. Junta-se 40 ml de hidróxido de sódio 1N e agita-se até que a solução esteja completa. Usando um medidor de pH, ajusta-se o pH da solução em  $7,4 \pm 0,1$  adicionando-se hidróxido de sódio 1N, gota a gota, agitando-se. Transfere-se a solução, quantitativamente, para um balão volumétrico de 200 ml e, dilui-se para 200 ml com o tampão de fosfato pH 7,4. Adiciona-se 2 ml de clorofórmio e guarda-se no refrigerador.

**4.1.3) Reagente de cor.** Dissolve-se em 200 ml de ácido clorídrico 1N, 0,0396 g de dinitrofenilhidrazina,  $(\text{NO}_2)_2 \text{C}_6\text{H}_3\text{NHNH}_2$ , agitando-se constantemente. Guarda-se no refrigerador.

**4.1.4) Hidróxido de sódio, 0,4N.** Dissolve-se 16 g de hidróxido de sódio (NaOH) em 1 litro de água destilada.

## 4.2) Preparo dos Reagentes para doseamento da TGP

Todos os reagentes são os mesmos que os da TGO, exceto o substrato.

**4.2.1) Substrato do TGP.** Pesa-se 0,0292 g de ácido alfa-cetoglutâmico e 1,78 g de DL-alanina, e coloca-os num Becker de 100 ml. Adiciona-se 20 ml de água e agita-se até que a solução esteja completa. Com o auxílio de um medidor ajusta-se o pH da solução em  $7,4 \pm 0,1$ , adicionando-se hidróxido de sódio 1N, gota a gota, agitando-se. O ajustamento exige aproximadamente 10 gotas. Transfere-se a solução, quantitativamente, para um balão volumétrico de 100 ml, e dilui-se para 100 ml com o tampão de fosfatos pH 7,4. Adiciona-se 2 ml de clorofórmio, e guarda-se no refrigerador.

## 4.3) Preparo do Reagente - Padrão de Piruvato

Dissolve-se 20,0 mg de piruvato de sódio em 100 ml de tampão de fosfatos pH 7,4.

## 5) Curva de Calibração

### 5.1) Colorimetria

Como as absorvâncias não são proporcionais à atividade enzimática, não é possível usar o fator de calibração. Assim é necessário preparar uma curva de calibração. Esta curva é obtida da seguinte maneira:

5.1.1) Identifica-se 5 tubos de ensaio de "1" a "5".

REAGENTES	TUBOS N°				
	"1"	"2"	"3"	"4"	"5"
Padrão de Piruvato	-	0,1 ml	0,2 ml	0,3 ml	0,4 ml
Substrato de TGO	1,0 ml	0,9 ml	0,8 ml	0,7 ml	0,6 ml
Água	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml
Reagente de Cor	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

5.1.2) Homogeneiza-se bem e aguarda-se 20 minutos à temperatura ambiente.

5.1.3) Adiciona-se 10 ml de hidróxido de sódio 0,4N a cada tubo, homegeiniza-se bem e aguarda-se por 5 minutos à temperatura ambiente.

5.1.4) Efetua-se as leituras fotométricas em 505 nm.

## 5.2) Curva de Calibração

Traça-se a curva de calibração, correlacionando em papel milimetrado os valores das absorvâncias, ou em semi-log os valores das transmitâncias, com as concentrações das enzimas.

ENZIMA	TUBOS N° (U/ml)				
	“1”	“2”	“3”	“4”	“5”
TGO	0	24	61	114	190
TGP	0	28	57	97	150

## 6) Métodos Estatísticos

Para as variáveis AST e ALT, no soro, foram realizadas análises de variância e teste de Tukey ao nível de significância de 1%, com base na média dos valores obtidos nos diferentes intervalos de tempo, para o grupo controle e grupos tratados.

## **SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA**

## SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

Os experimentos foram realizados utilizando-se 42 animais de pesos conhecidos e que foram submetidos a hepatectomia parcial através de técnica descrita por Higgins e Anderson em 1931. Os 42 animais foram divididos em 7 grupos: Grupo Controle (C), Grupos Diazepam (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>) e Grupos Buspirona (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>).

**1) Grupo C** - Esse grupo constituiu-se de 6 animais parcialmente hepatectomizados, que receberam, diariamente, 2 ml de solução de cloreto de sódio 0,9% (I.P.), 1 ml pela manhã e 1 ml à tarde, por um período de 5 dias.

### 1.1) Análise do Sangue

Foram colhidas amostras de sangue, para análise da AST e ALT, no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento. As colheitas de sangue foram feitas na cauda do animal, segundo técnica descrita anteriormente (Material e Métodos).

**2) Grupo Diazepam** - Formados por 18 animais tratados com diazepam e que foram sub-divididos nos sub-grupos D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>, conforme descrição a seguir:

**2.1) Grupo D<sub>1</sub>** - Esse grupo constituiu-se de 6 animais parcialmente hepatectomizados, que receberam, diariamente, 0,42 mg/Kg/dia de diazepam (I.P.), sendo metade da dose pela manhã e metade à tarde, por um período de 5 dias.

**2.2) Grupo D<sub>2</sub>** - Esse grupo constituiu-se de 6 animais parcialmente hepatectomizados, que receberam, diariamente, 0,85 mg/Kg/dia de diazepam (I.P.), sendo metade da dose pela manhã e metade à tarde, por um período de 5 dias.

**2.3) Grupo D<sub>3</sub>** - Esse grupo constituiu-se de 6 animais parcialmente hepatectomizados, que receberam, diariamente, 1,7 mg/Kg/dia de diazepam (I.P.), sendo metade da dose pela manhã e metade à tarde, por um período de 5 dias.



## **2.4) Análise do Sangue**

Foram colhidas amostras de sangue, para análise da AST e ALT, no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento. As colheitas de sangue foram feitas na cauda do animal, segundo técnica descrita anteriormente (Material e Métodos).

**3) Grupo Buspirona** - Formados por 18 animais tratados com buspirona e que foram sub-divididos nos sub-grupos B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>, conforme descrição a seguir:

**3.1) Grupo B<sub>1</sub>** - Esse grupo constituiu-se de 6 animais parcialmente hepatectomizados, que receberam, diariamente, 0,42 mg/Kg/dia de buspirona (I.P.), sendo metade da dose pela manhã e metade à tarde, por um período de 5 dias.

**3.2) Grupo B<sub>2</sub>** - Esse grupo constituiu-se de 6 animais parcialmente hepatectomizados, que receberam, diariamente, 0,85 mg/Kg/dia de buspirona (I.P.), sendo metade da dose pela manhã e metade à tarde, por um período de 5 dias.

**3.3) Grupo B<sub>3</sub>** - Esse grupo constituiu-se de 6 animais parcialmente hepatectomizados, que receberam, diariamente, 1,7 mg/Kg/dia de buspirona (I.P.), sendo metade da dose pela manhã e metade à tarde, por um período de 5 dias.

## **3.4) Análise do Sangue**

Foram colhidas amostras de sangue, para análise da AST e ALT, no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento. As colheitas de sangue foram feitas na cauda do animal, segundo técnica descrita anteriormente (Material e Métodos).

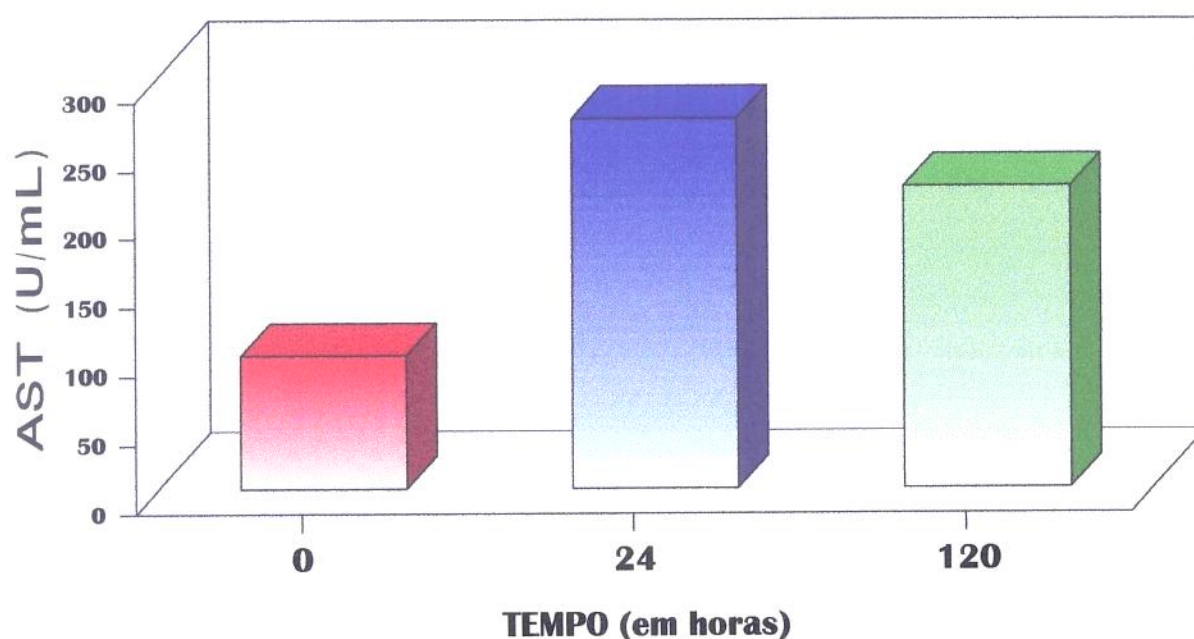
## **RESULTADOS**

## RESULTADOS

Na Tabela 01 estão apresentados os valores da atividade enzimática da AST (TGO) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Controle (C), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 01** - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	106	280	200
02	100	240	220
03	98	260	220
04	92	300	240
05	98	300	220
06	104	240	220
<b>MÉDIA</b>	<b>99,66</b>	<b>270,00</b>	<b>220,00</b>

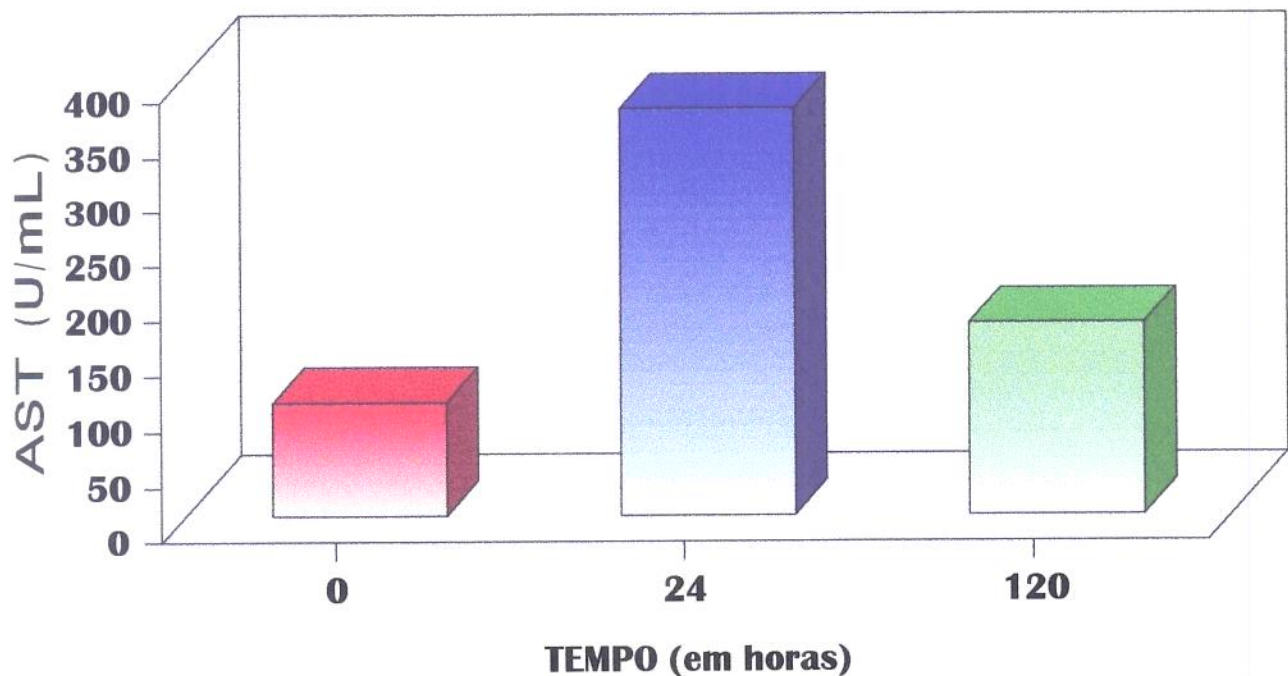


**GRÁFICO 1** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo controle (C), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 02 estão apresentados os valores da atividade enzimática da AST (TGO) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Diazepam ( $D_1$  - 0,42 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 02** - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	108	360	180
02	100	400	160
03	98	420	180
04	104	380	180
05	104	320	200
06	100	340	140
MÉDIA	102,33	370,00	173,33

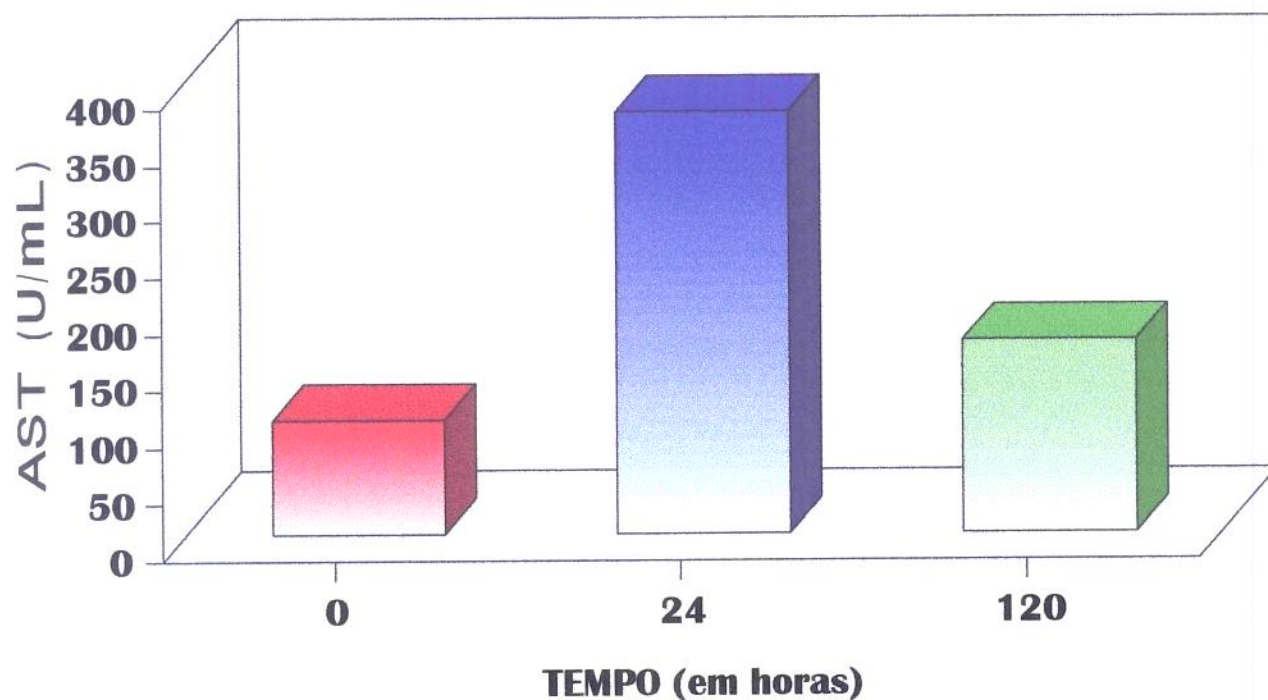


**GRÁFICO 2** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo diazepam ( $D_1$ ), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 03 estão apresentados os valores da atividade enzimática da AST (TGO) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Diazepam (D<sub>2</sub> - 0,85 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 03** - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	104	340	180
02	92	380	200
03	104	380	180
04	100	360	160
05	104	400	160
06	96	380	140
<b>MÉDIA</b>	100,00	373,33	170,00

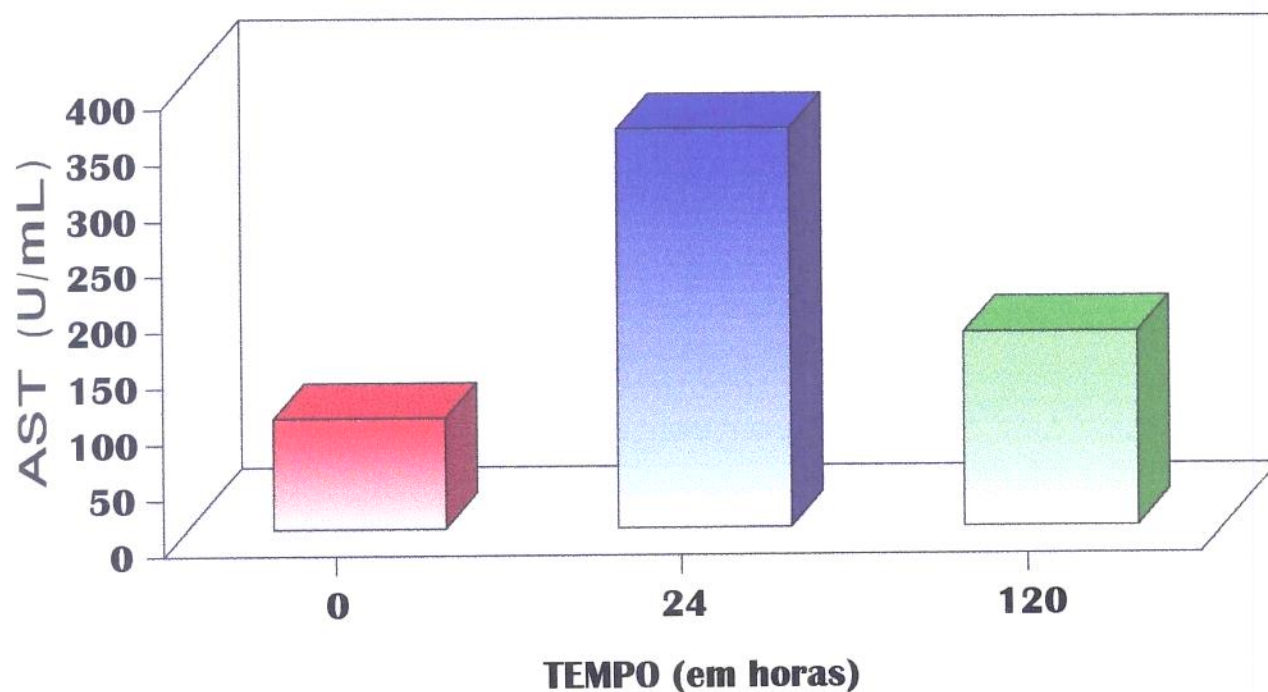


**GRÁFICO 3** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo diazepam (D<sub>2</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 04 estão apresentados os valores da atividade enzimática da AST (TGO) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Diazepam (D<sub>3</sub> - 1,7 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 04** - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	102	400	160
02	96	320	170
03	96	340	160
04	98	360	200
05	100	360	180
06	100	360	170
<b>MÉDIA</b>	<b>98,66</b>	<b>356,66</b>	<b>173,33</b>

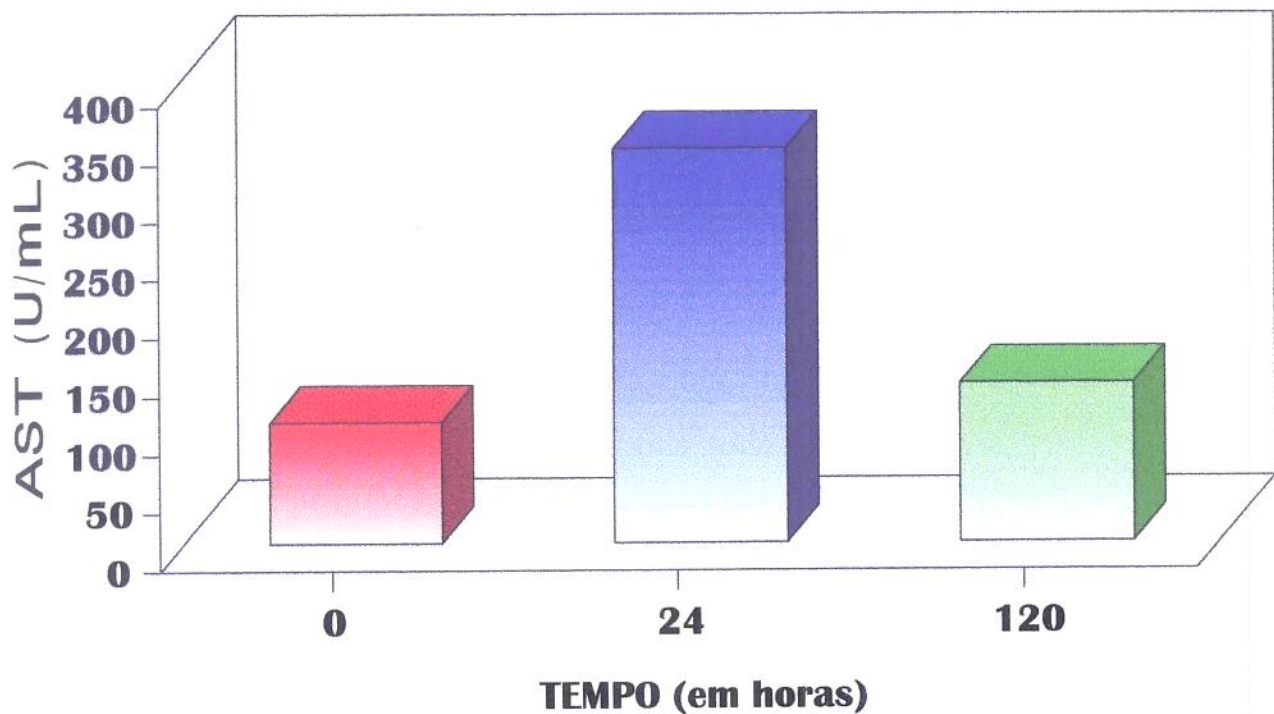


**GRÁFICO 4** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo diazepam (D<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 05 estão apresentados os valores da atividade enzimática da AST (TGO) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Buspirona (B<sub>1</sub> - 0,42 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 05** - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	104	360	120
02	94	320	80
03	108	340	120
04	104	320	160
05	104	340	180
06	108	360	160
<b>MÉDIA</b>	<b>103,66</b>	<b>340,00</b>	<b>133,33</b>

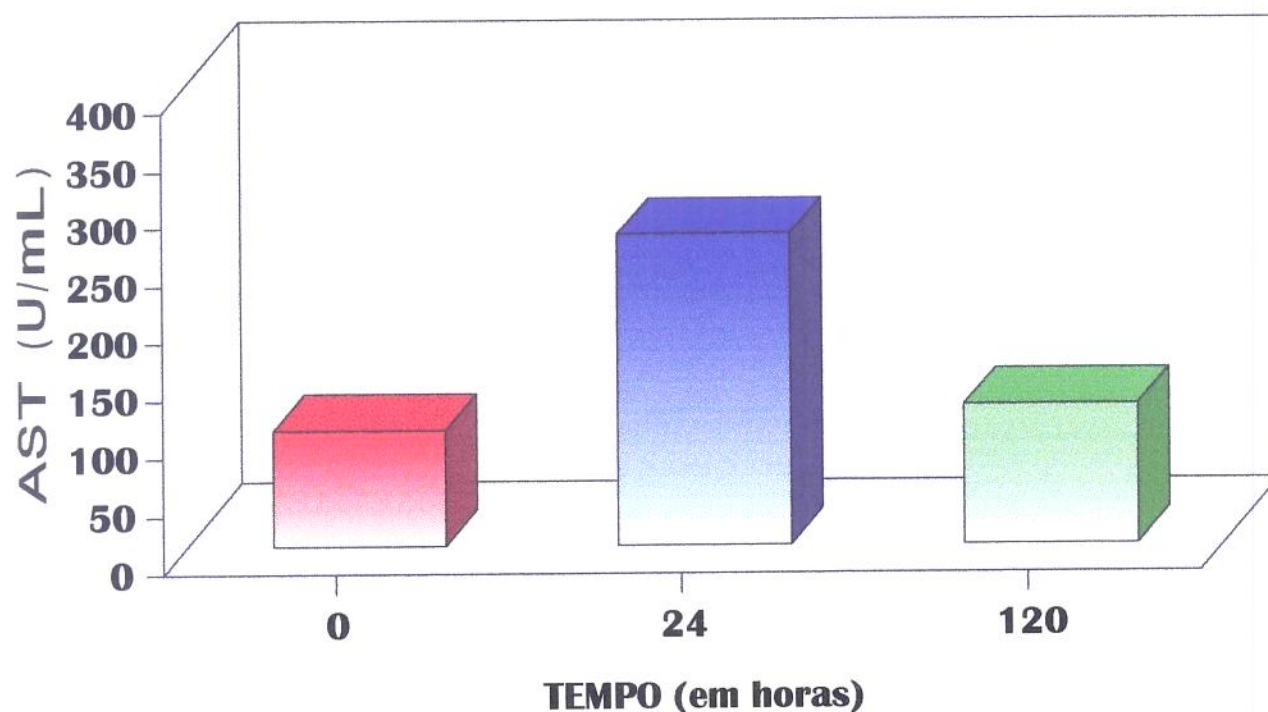


**GRÁFICO 5** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo buspirona (B<sub>1</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 06 estão apresentados os valores da atividade enzimática da AST (TGO) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Buspirona (B<sub>2</sub> - 0,85 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 06** - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	94	260	120
02	104	240	140
03	108	240	100
04	94	260	100
05	104	280	120
06	94	340	140
<b>MÉDIA</b>	99,66	270,00	120,00



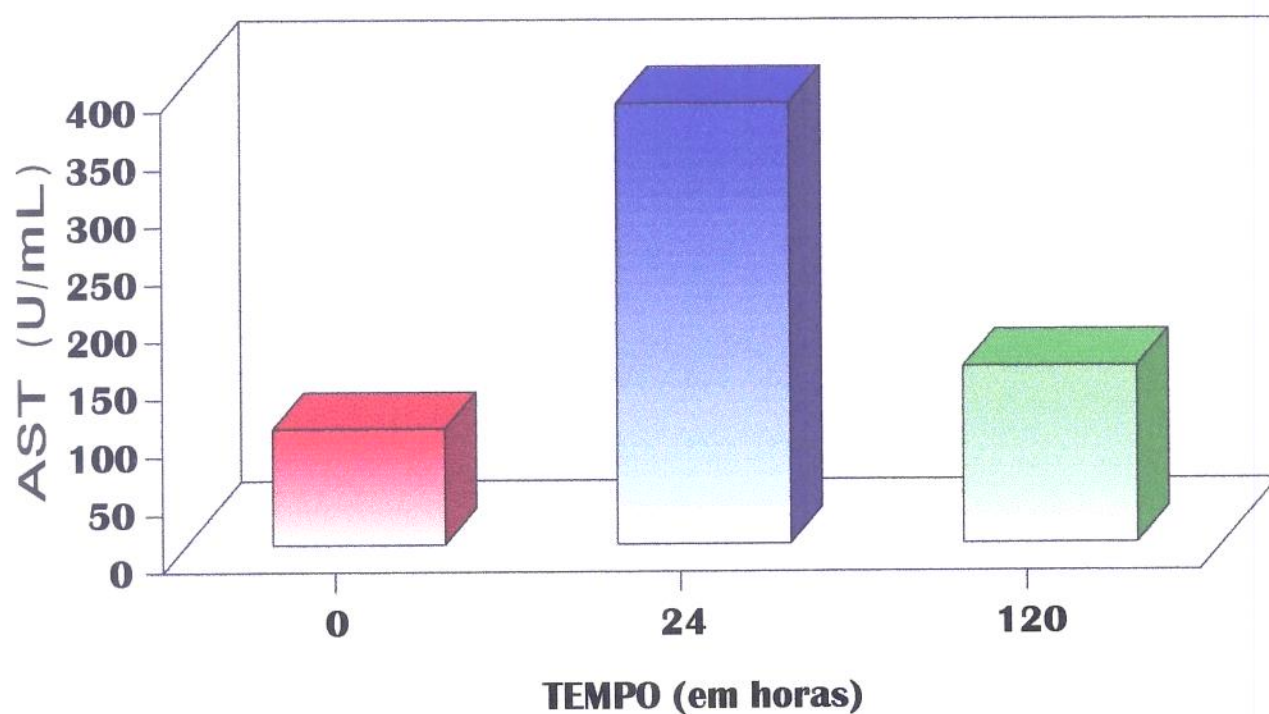
**GRÁFICO 6** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo buspirona (B<sub>2</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas.



Na Tabela 07 estão apresentados os valores da atividade enzimática da AST (TGO) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Buspirona (B<sub>3</sub> - 1,7 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 07** - Valores da atividade enzimática da AST, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	108	440	140
02	98	420	160
03	96	360	140
04	100	340	180
05	94	400	120
06	104	340	180
<b>MÉDIA</b>	100,00	383,33	153,33

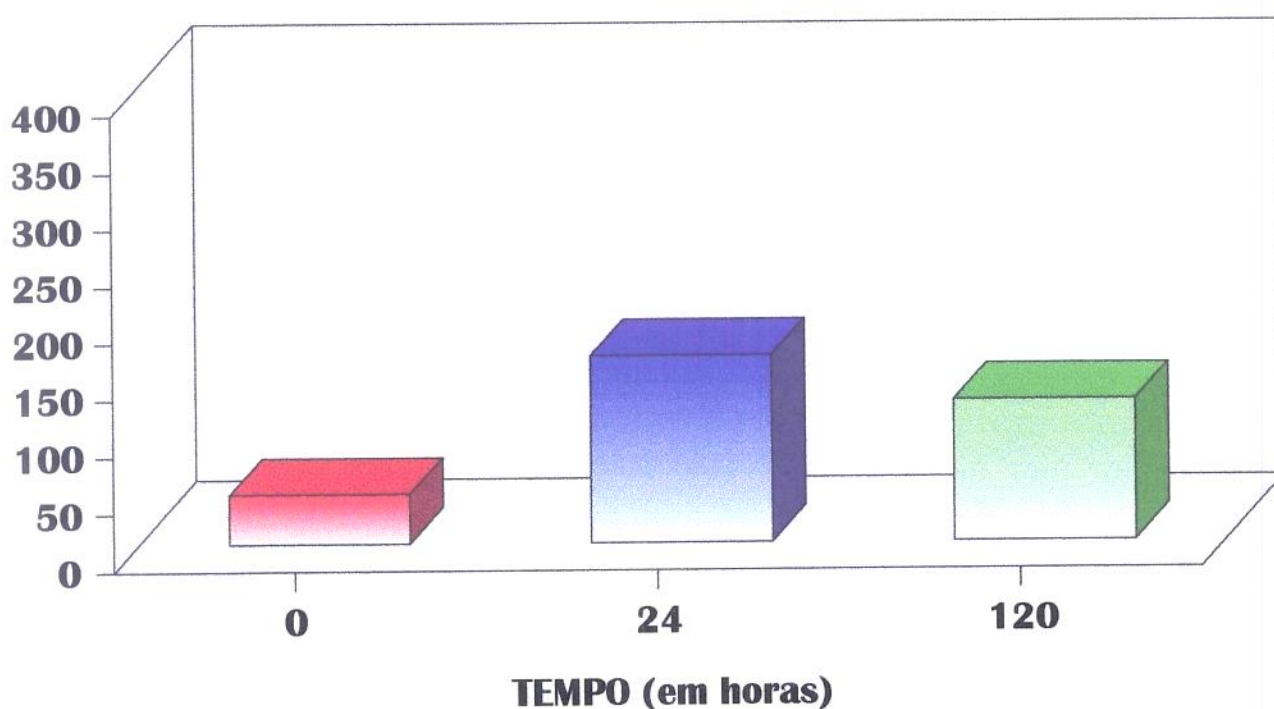


**GRÁFICO 7** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo buspirona (B<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 08 estão apresentados os valores da atividade enzimática da ALT (TGP) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Controle (C), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 08** - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	46	200	140
02	48	120	100
03	44	160	100
04	36	180	120
05	46	180	140
06	38	140	140
<b>MÉDIA</b>	<b>43,00</b>	<b>163,33</b>	<b>123,33</b>

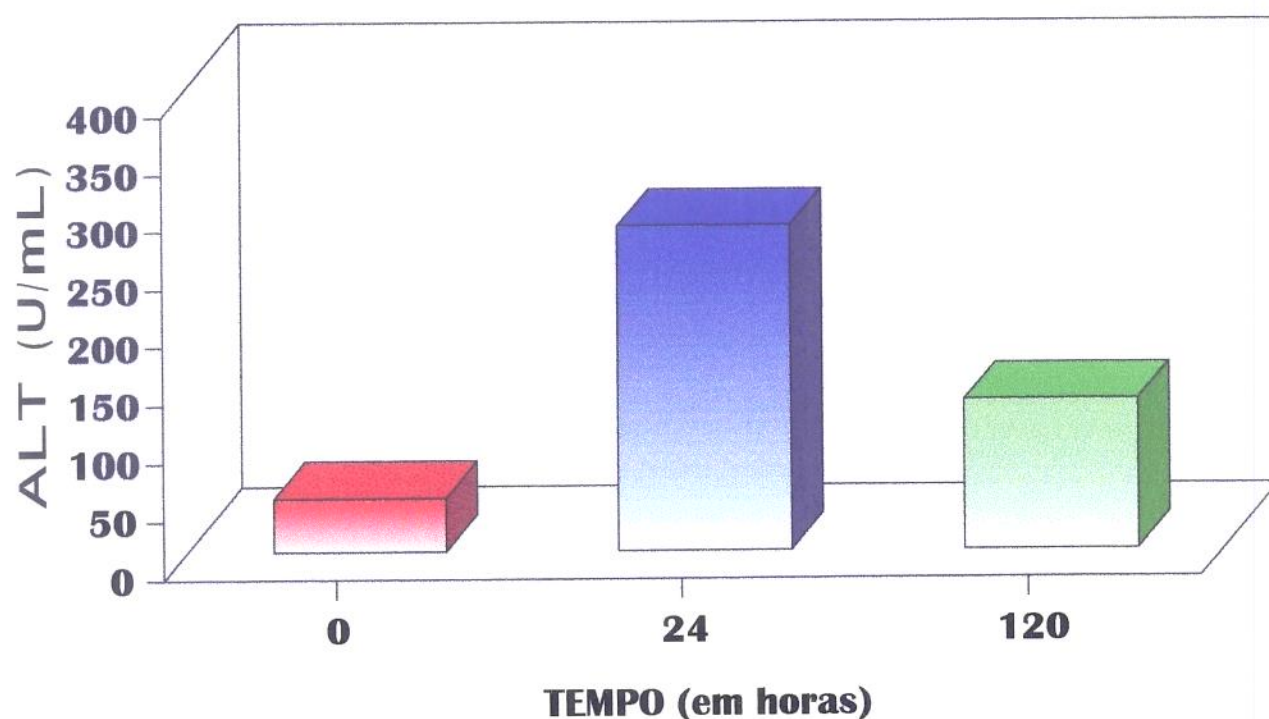


**GRÁFICO 8** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo controle (C), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 09 estão apresentados os valores da atividade enzimática da ALT (TGP) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Diazepam ( $D_1$  - 0,42 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 09** - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	46	260	140
02	48	280	140
03	44	300	120
04	44	300	130
05	46	260	140
06	44	280	100
<b>MÉDIA</b>	<b>45,33</b>	<b>280,00</b>	<b>128,33</b>

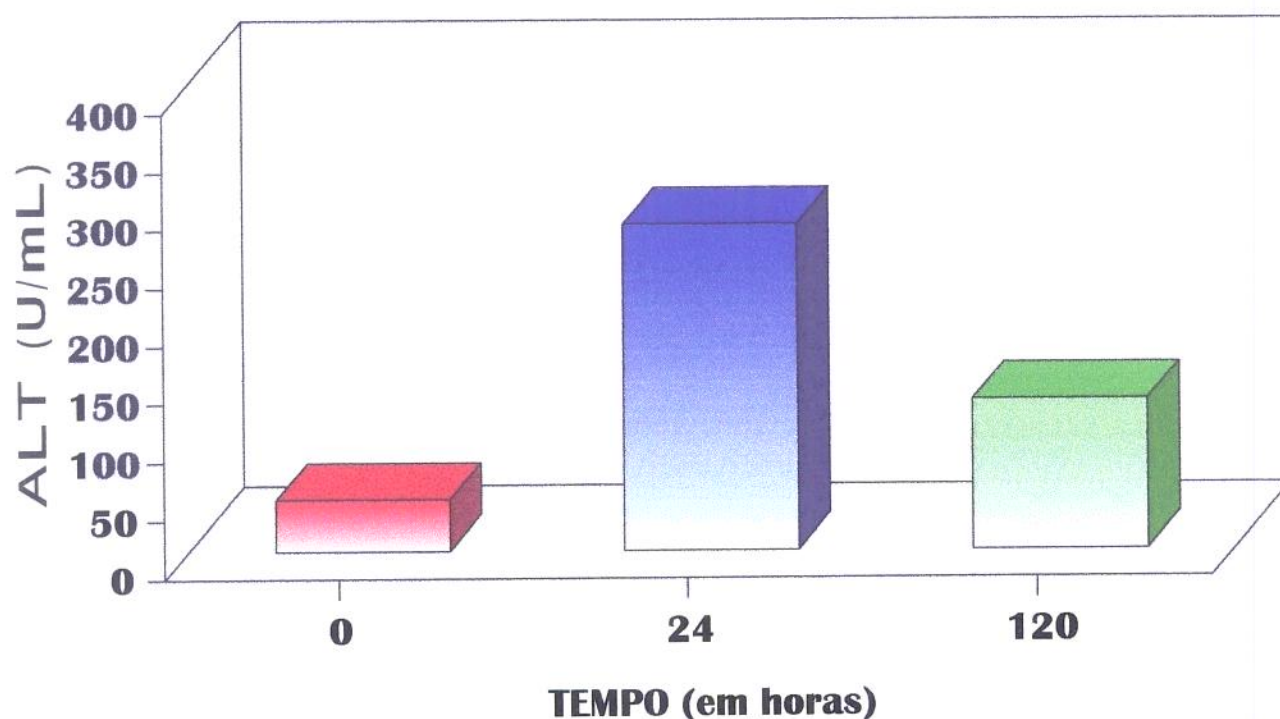


**GRÁFICO 9** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo diazepam ( $D_1$ ), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 10 estão apresentados os valores da atividade enzimática da ALT (TGP) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Diazepam ( $D_2$  - 0,85 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 10** - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	46	280	160
02	46	300	140
03	42	300	130
04	42	280	100
05	46	240	120
06	40	280	120
<b>MÉDIA</b>	<b>43,66</b>	<b>280,00</b>	<b>128,33</b>

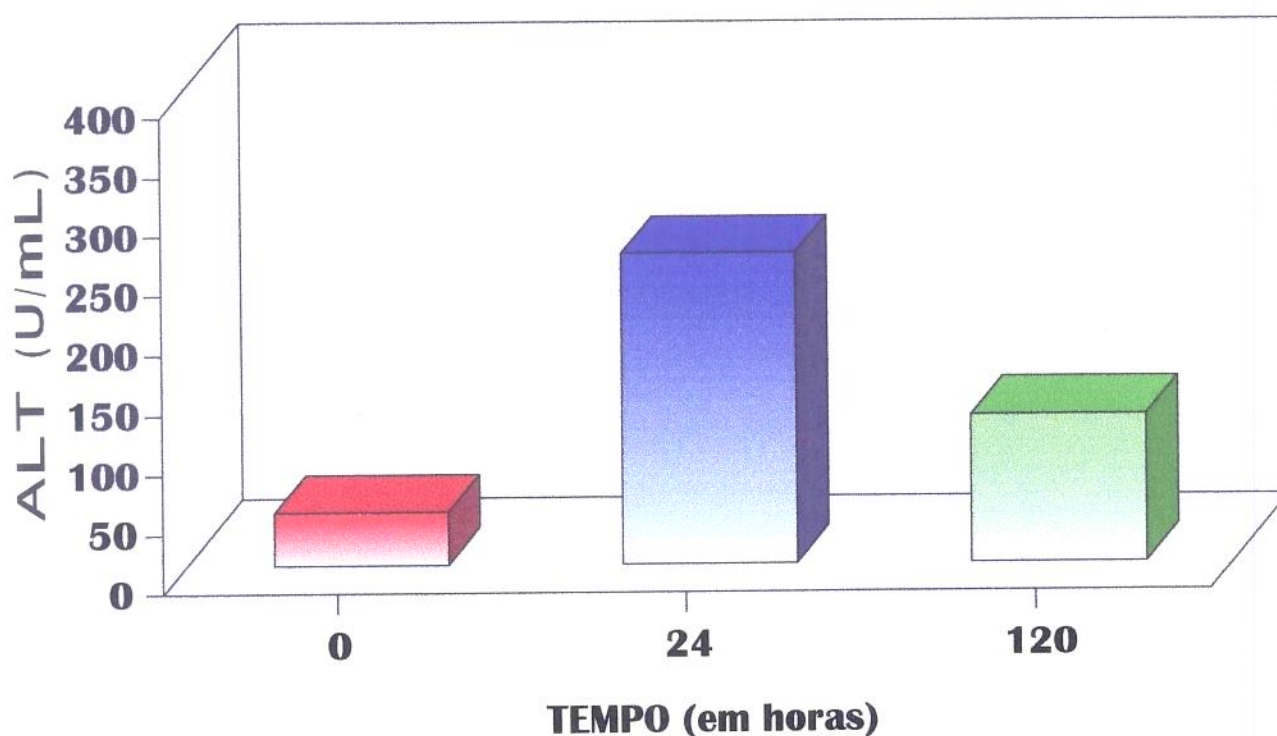


**GRÁFICO 10** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo diazepam ( $D_2$ ), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 11 estão apresentados os valores da atividade enzimática da ALT (TGP) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Diazepam (D<sub>3</sub> - 1,7 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 11** - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	46	200	100
02	44	260	120
03	44	260	120
04	44	240	160
05	44	220	140
06	42	300	100
<b>MÉDIA</b>	<b>44,00</b>	<b>260,00</b>	<b>123,33</b>

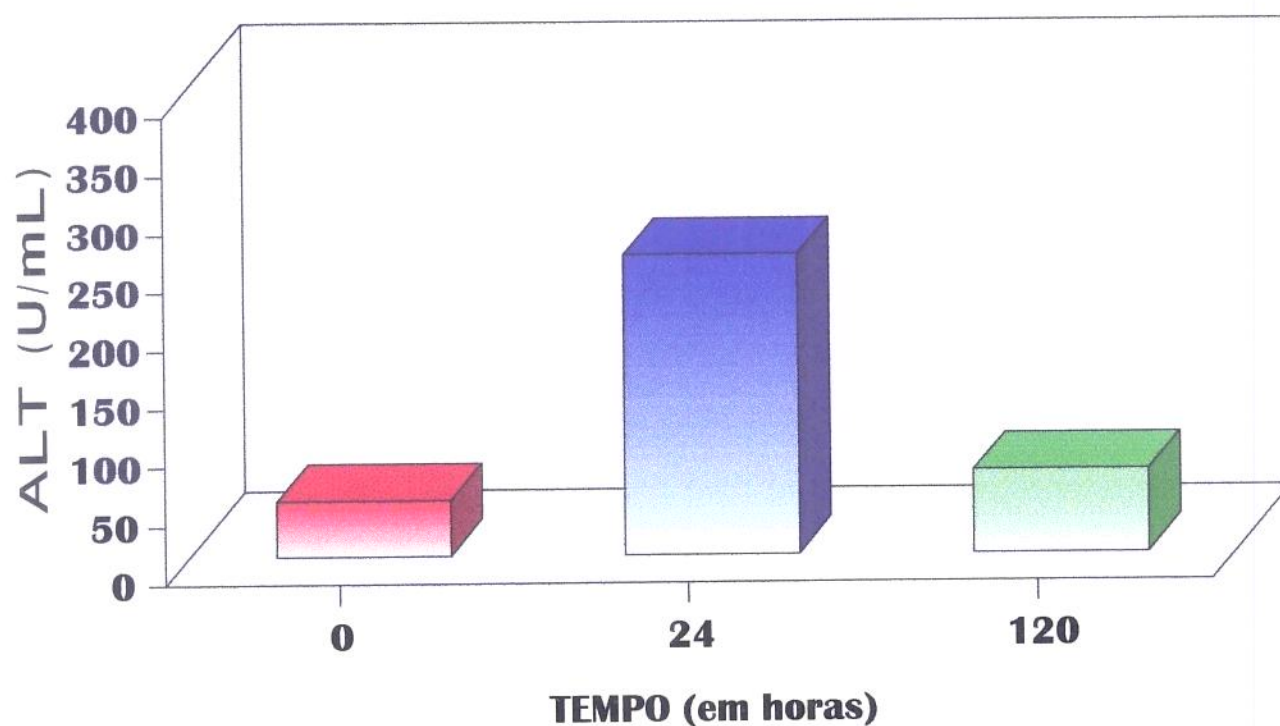


**GRÁFICO 11** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo diazepam (D<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 12 estão apresentados os valores da atividade enzimática da ALT (TGP) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Buspirona ( $B_1$  - 0,42 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 12** - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	50	280	60
02	48	240	60
03	46	240	40
04	46	260	100
05	44	240	100
06	48	280	60
<b>MÉDIA</b>	<b>47,00</b>	<b>256,66</b>	<b>70,00</b>

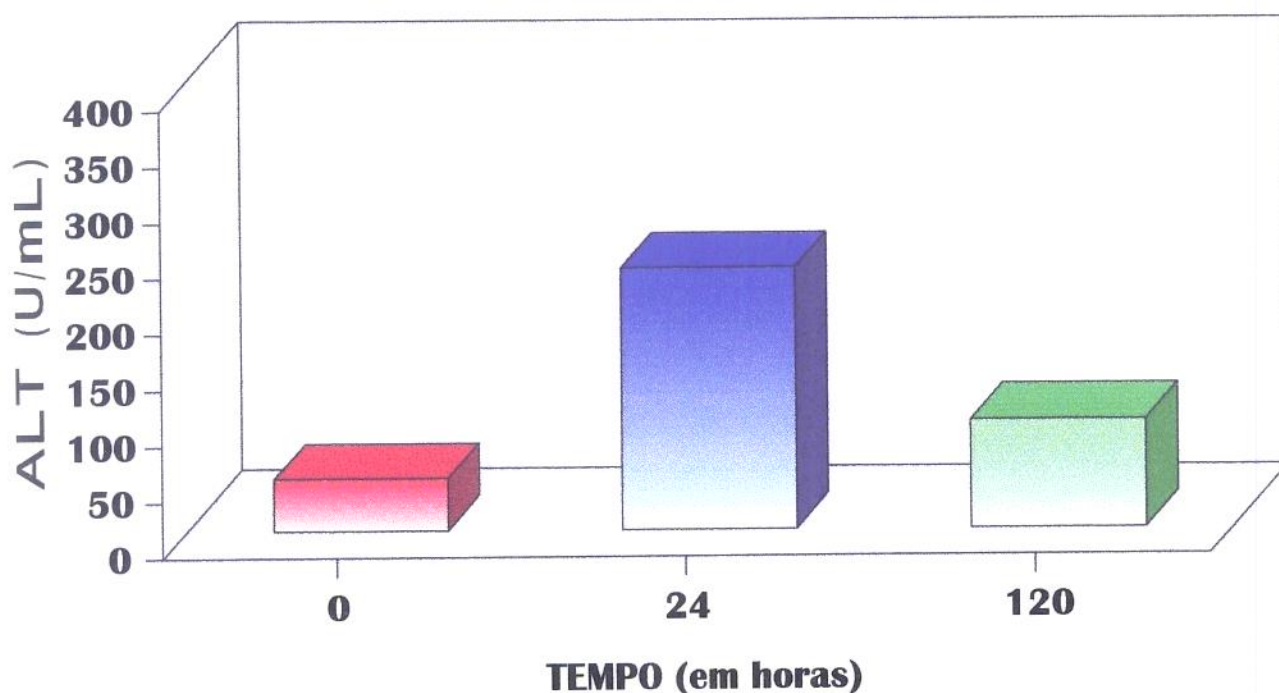


**GRÁFICO 12** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo buspirona ( $B_1$ ), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 13 estão apresentados os valores da atividade enzimática da ALT (TGP) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Buspirona (B<sub>2</sub> - 0,85 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 13** - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	44	220	60
02	46	200	100
03	48	240	100
04	44	240	80
05	50	260	100
06	46	240	140
<b>MÉDIA</b>	<b>46,33</b>	<b>233,33</b>	<b>96,66</b>

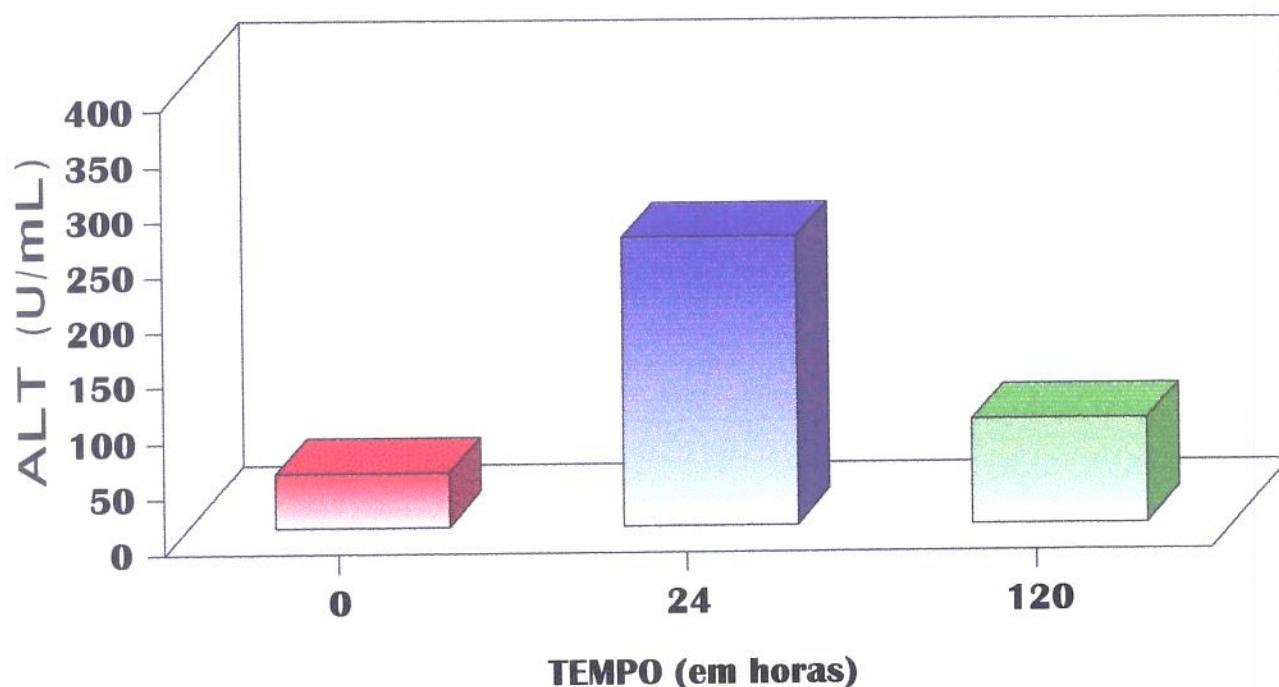


**GRÁFICO 13** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo buspirona (B2), no início, após 24 horas e após 120 horas.

Na Tabela 14 estão apresentados os valores da atividade enzimática da ALT (TGP) em U/ml, no soro do sangue, bem como as médias para os animais do Grupo Buspirona (B<sub>3</sub> - 1,7 mg/Kg/dia), no início, após 24 horas e após 120 horas de experimento.

**TABELA 14** - Valores da atividade enzimática da ALT, em U/ml no soro, no início, após 24 horas e após 120 horas.

Animal	Primeira Amostra - Início	Segunda Amostra - 24 h	Terceira Amostra - 120 h
01	50	220	100
02	48	260	120
03	48	240	100
04	50	280	80
05	46	300	80
06	48	260	80
<b>MÉDIA</b>	<b>48,33</b>	<b>260,00</b>	<b>93,33</b>



**GRÁFICO 14** - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT em U/ml, no soro do sangue dos animais do grupo buspirona (B<sub>3</sub>), no início, após 24 horas e após 120 horas.



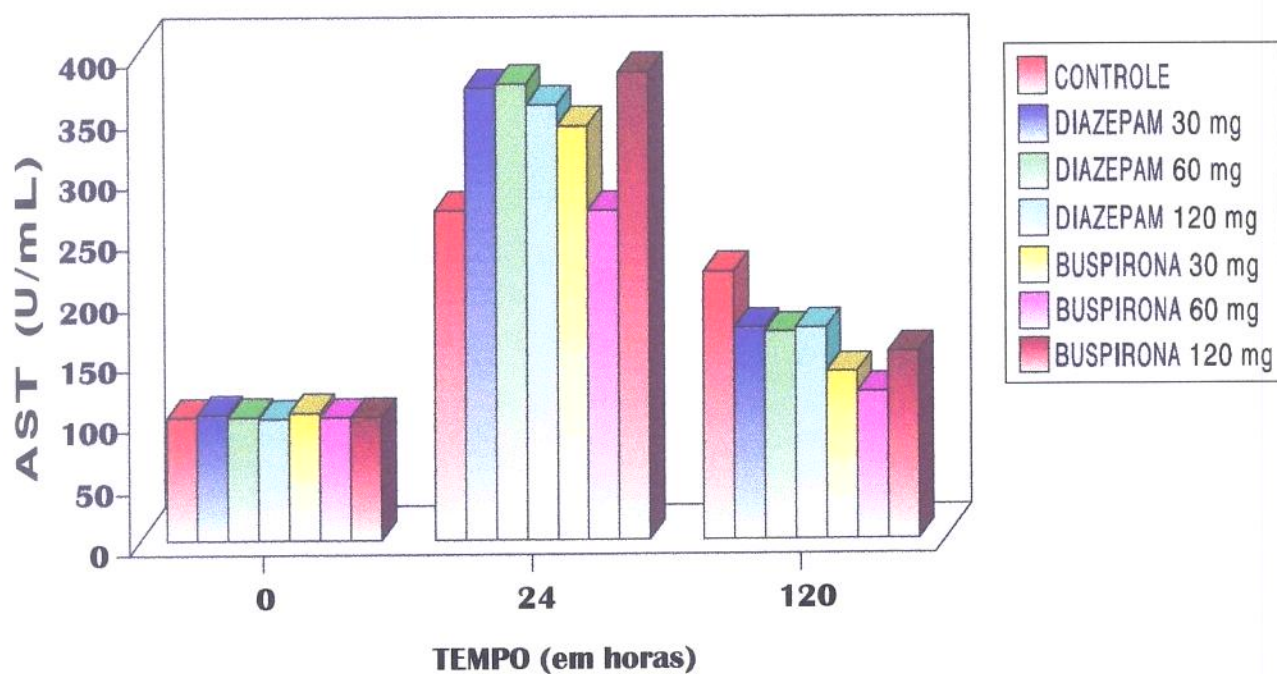


GRÁFICO 15 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da AST em U/ml, no soro do sangue dos animais dos grupos (C, D1, D2, D3, B1, B2 e B3), no início, após 24 horas e após 120 horas.

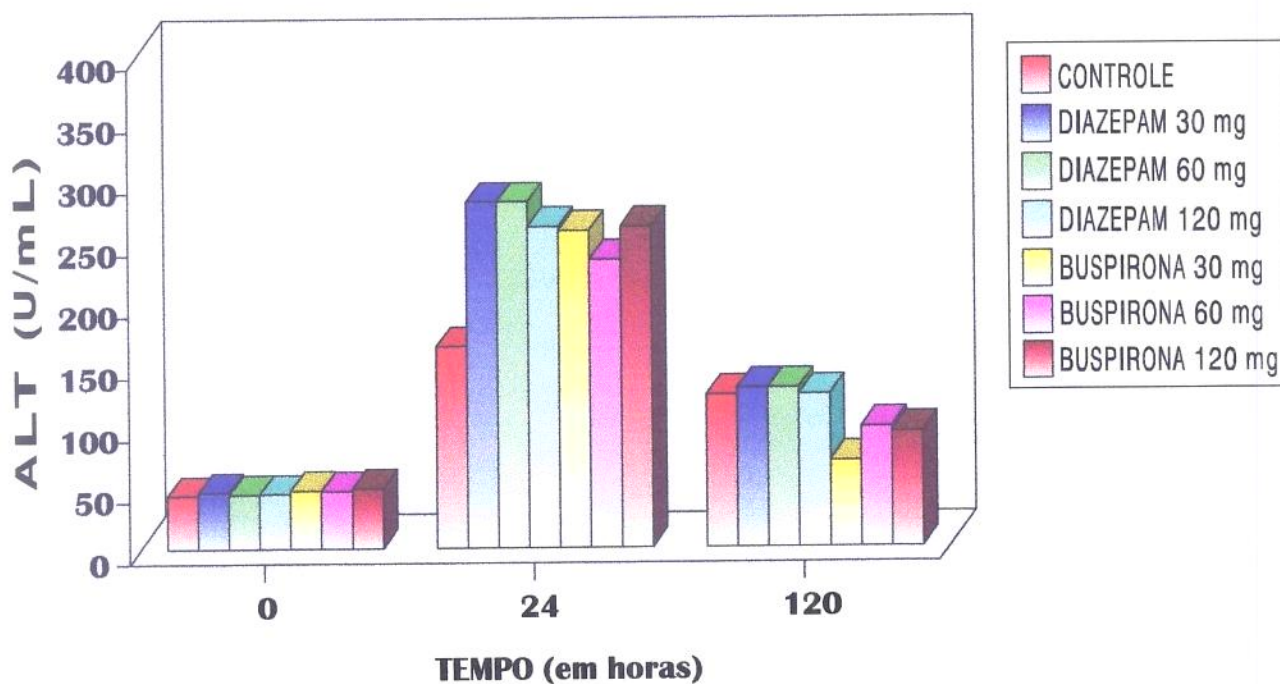


GRÁFICO 16 - Representação gráfica das médias dos valores da atividade enzimática da ALT em U/ml, no soro do sangue dos animais dos grupos (C, D1, D2, D3, B1, B2 e B3), no início, após 24 horas e após 120 horas.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de AST estão apresentados nas Tabelas nº 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7.

Esses dados foram submetidos a uma análise de variância, em parcelas subdivididas. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela A.

**TABELA A** - Análise de variância dos dados de AST apresentados nas tabelas nº 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7.

CAUSAS DA VAR.	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F
GRUPOS (6)	6	37536.88	6256.14	13.1260 **
RESÍDUO (A)	35	16681.77	476.62	
RATOS	41	54218.66		
TEMPO	2	1265605.33	632802.66	1234.9014 **
GRU*TEM	12	82993.77	6916.14	13.4967 **
RESÍDUO (B)	70	35870.22	512.43	
TOTAL	125	1438688.00		

NOTA: Dois asterísticos indicam significância a 1%.

Os valores de F, apresentados na TABELA A, indicam que existe diferença estatística entre médias de grupos, entre médias de períodos e existe interação entre grupos e períodos.

Para identificar os grupos que diferem em média, entre si, aplicou-se o teste de Tukey. As médias dos tratamentos, em ordem de grandeza, estão na TABELA B.

**TABELA B** - Médias de AST em cada grupo.

GRUPO	MÉDIAS	1%
D1	215.222222	A
D2	214.444444	A
B3	212.222222	A
D3	209.555556	A
CONTROLE	196.555556	A
B1	193.444444	A
B2	163.222222	B

Como mostra a TABELA B, o grupo B<sub>2</sub> apresentou média significativamente menor que os outros grupos, ao nível de 1%.

Como houve interação grupos vs períodos, aplicou-se o teste de Tukey para comparar os grupos em cada tempo.

As Tabelas C, D e E apresentam os resultados do teste de Tukey ao nível de 1%, comparando os grupos nos períodos de zero (0), 24 horas e 120 horas.

**TABELA C** - Médias de AST para cada grupo no período de zero (0) hora.

GRUPO	MÉDIAS	1%
B1	103.666667	A
D1	102.333333	A
B3	100.000000	A
D2	100.000000	A
B2	99.666667	A
CONTROLE	99.666667	A
D3	98.666667	A

Não houve diferença significativa entre grupos a zero hora.

**TABELA D** - Médias de AST para cada grupo no período de 24 horas.

GRUPO	MÉDIAS	1%
B3	383.333333	A
D2	373.333333	A
D1	370.000000	A
D3	356.666667	A
B1	340.000000	A
CONTROLE	270.000000	B
B2	270.000000	B

Como mostra a TABELA D, o grupo B<sub>3</sub> apresenta média significativamente maior que os grupos B<sub>2</sub> e controle, ao nível de 1% .

**TABELA E** - Médias de AST para cada grupo no período de 120 horas.

GRUPO	MÉDIAS	1%
CONTROLE	220.000000	A
D1	173.333333	B
D3	173.333333	B
D2	170.000000	B
B3	153.333333	BC
B1	136.666667	BC
B2	120.000000	C

Como mostra a TABELA E, o grupo controle (C), apresenta média significativamente maior que os grupos D<sub>1</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>, ao nível de 1%.

A TABELA F apresenta os resultados do teste de Tukey para médias de AST nos períodos de zero (0), 24 horas e 120 horas, dentro dos grupos controle, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>.

**TABELA F** - Médias nos períodos dentro dos grupos.

CONTROLE					
ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MÉDIAS	1%
1	2	24H	6	270.000000	A
2	3	120H	6	220.000000	B
3	1	0H	6	99.666667	C

B1					
ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MÉDIAS	1%
1	2	24H	6	340.000000	A
2	3	120H	6	136.666667	B
3	1	0H	6	103.666667	C

B2					
ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MÉDIAS	1%
1	2	24H	6	270.000000	A
2	3	120H	6	120.000000	B
3	1	0H	6	99.666667	C

B3					
ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MÉDIAS	1%
1	2	24H	6	383.333333	A
2	3	120H	6	153.333333	B
3	1	0H	6	100.000000	C

D1

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	370.000000	A
2	3	120H	6	173.333333	B
3	1	0H	6	102.333333	C

D2

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	373.333333	A
2	3	120H	6	170.000000	B
3	1	0H	6	100.000000	C

D3

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	356.666667	A
2	3	120H	6	173.333333	B
3	1	0H	6	98.666667	C

Como mostra a TABELA F o período de 24 horas apresenta média significativamente maior, que os períodos de 120 horas e zero (0) horas, a nível de 1%, em todos os grupos. O período de 120 horas apresenta média significativamente maior, que o período zero (0) hora, a nível de 1%, em todos os grupos.

Os dados de ALT estão apresentados nas Tabelas 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14.

Esses dados foram submetidos a uma análise de variância, em parcelas subdivididas. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela G.

**TABELA G** - Análise de variância dos dados de ALT apresentados nas tabelas nº 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14.

CAUSAS DA VAR.	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F
GRUPOS (6)	6	25009.96	4168.32	13.4165 **
RESÍDUO (A)	35	10874.00	310.68	
RATOS	41	35883.96		
TEMPO	2	898180.25	449090.12	1225.0458 **
GRU*TEM	12	52350.41	4362.53	11.9003 **
RESÍDUO (B)	70	25661.33	366.59	
TOTAL	125	1012075.96		

NOTA: Dois asterísticos indicam significância a 1%.

Os valores de F, apresentados na TABELA G, indicam que existe diferença estatística entre médias de grupos, entre médias de períodos e existe interação entre grupos e períodos.

Para identificar os grupos que diferem em média, entre si, aplicou-se o tes-te de Tukey. As médias dos tratamentos, em ordem de grandeza, estão na TABELA H.

**TABELA H** - Médias de ALT em cada grupo.

GRUPO	MÉDIAS	1%
D1	151.222222	A
D2	150.666667	A
D3	142.444444	AB
B3	133.888889	AB
B2	125.444444	BC
B1	124.555556	BC
CONTROLE	109.888889	C

Como mostra a TABELA H os grupos D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> apresentam médias significativamente maior que os grupos B<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> e controle ao nível de 1%. Os grupos D<sub>3</sub> e B<sub>3</sub> apresentam médias significativamente maior que o grupo controle, ao nível de 1%.

Como houve interação grupos vs períodos, aplicou-se o teste de Tukey para comparar os grupos em cada tempo.

As tabelas I, J e K apresentam os resultados do teste de Tukey ao nível de 1%, comparando os grupos nos períodos de zero (0), 24 horas e 120 horas.

**TABELA I** - Médias de ALT para cada grupo no período de zero (0) hora.

GRUPO	MÉDIAS	1%
B3	48.333333	A
B1	47.000000	A
B2	46.333333	A
D1	45.333333	A
D3	44.000000	A
D2	43.666667	A
CONTROLE	43.000000	A

Não houve diferença significativa entre grupos a zero (0) hora.

**TABELA J** - Médias de ALT para cada grupo no período de 24 horas.

GRUPO	MÉDIAS	1%
D1	280.000000	A
D2	280.000000	A
B3	260.000000	AB
D3	260.000000	AB
B1	256.666667	AB
B2	233.333333	B
CONTROLE	163.333333	C

Como mostra a TABELA J, os grupos D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> apresentam médias significativamente maior que os grupos B<sub>2</sub> e controle, ao nível de 1%. O grupo controle apresentou média significativamente menor que os demais grupos, ao nível de 1%.

**TABELA K - Médias de ALT para cada grupo no período de 120 horas.**

GRUPO	MÉDIAS	1%
D1	128.333333	A
D2	128.333333	A
CONTROLE	123.333333	A
D3	123.333333	A
B2	96.666667	AB
B3	93.333333	AB
B1	70.000000	B

Como mostra a TABELA K, o grupo B<sub>1</sub> apresenta média significativamente menor que os grupos D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, controle e D<sub>3</sub>, ao nível de 1%.

A TABELA L apresenta os resultados do teste de Tukey para médias de ALT nos períodos de zero (0) horas, 24 horas e 120 horas, dentro dos grupos controle, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>.

**TABELA L - Médias nos períodos dentro dos grupos.**

## CONTROLE

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	163.333333	A
2	3	120H	6	123.333333	B
3	1	0H	6	43.000000	C

## B1

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	256.666667	A
2	3	120H	6	70.000000	B
3	1	0H	6	47.000000	C

## B2

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	233.333333	A
2	3	120H	6	96.666667	B
3	1	0H	6	46.333333	C



B3

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	260.000000	A
2	3	120H	6	93.333333	B
3	1	0H	6	48.333333	C

D1

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	280.000000	A
2	3	120H	6	128.333333	B
3	1	0H	6	45.333333	C

D2

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	280.000000	A
2	3	120H	6	128.333333	B
3	1	0H	6	43.666667	C

D3

ORDEM	GRUPO	NOME	REPET.	MEDIAS	1%
1	2	24H	6	260.000000	A
2	3	120H	6	123.333333	B
3	1	0H	6	44.000000	C

Como mostra a TABELA L, o período de 24 horas, apresenta média significativamente maior que os períodos de 120 horas e zero (0) hora, ao nível de 1%, em todos os grupos. O período de 120 horas apresenta média significativamente maior que o período de zero (0) hora, a nível de 1%, em todos os grupos.

## **DISCUSSÃO**

## DISCUSSÃO

A literatura relativa a ação farmacológica bem como aos efeitos adversos das drogas utilizadas no controle da ansiedade é muito rica. Goldberg (1984), observou que a buspirona apresentou propriedades ansiolíticas similares ao diazepam. O diazepam foi mais eficiente no tratamento dos sintomas somáticos da ansiedade, enquanto a buspirona o foi no tratamento dos sintomas indicativos de cognição e interpessoais como raiva e hostilidade. Houve também diferenças no que diz respeito aos efeitos adversos. O diazepam produziu significativamente mais sedação que a buspirona, enquanto esta produziu mais fraqueza, vertigem e cefaléia.

Os efeitos adversos causados pelo diazepam são mais frequentes quando comparados com os da buspirona, apresentando significados clínicos mais importantes. Em algumas situações os efeitos adversos, tais como relaxamento muscular e sedação, entre outros, podem ser desejados. A interação medicamentosa também é alvo de pesquisas.

Moskowitz e Smiley (1982) estudaram os efeitos da buspirona (20 mg/dia-vo) e diazepam (15 mg/dia-vo) administradas separadamente e em associação com etanol (0,85 g/Kg/dia-vo) na tarefa de condução de veículo (simulador de condução) e verificaram que o grupo diazepam obteve pior performance no simulador, enquanto que o grupo buspirona obteve performance significativamente melhor, tendo como parâmetros controle do caminho, controle de velocidade, detecção de alvos e prova de decisão de emergência.

O uso recreacional e a potencialidade em causar dependência física é um parâmetro importante para se testar a eficácia e segurança das drogas.

Blaster e Woolverton (1982) realizaram um estudo com buspirona, clordiazepóxico e clorazepato (100 µg/Kg/cada injeção-iv) em macacos Rhesus treinados em pressionar alavancas para injeção intravenosa de cocaína e constataram que os resultados obtidos não indicam o uso recreacional dessas drogas.

Cole et al (1982) administraram buspirona (40 mg/dia-vo) metaqualone (300 mg/dia-vo) e diazepam (40 mg/dia-vo) em 36 pacientes avaliando o uso destas drogas como sedativo recreacional. Metaqualone causou elevação do grau de euforia, diazepam mostrou alguns efeitos euforizantes quando comparado com o placebo e buspirona causou diminuição da sedação física, diminuição da depressão física e mental e queda nos graus de dependência abusiva e pareceu improvável como meio de causar euforia ilícita.

Uma propriedade do diazepam é a sua capacidade de atravessar a placenta e se depositar nos tecidos fetais.

Idän Pään-Heikkila et al (1971), avaliaram em um trabalho com diazepam marcado (diazepam c-iv) administrado em camundongos (1ª e última semana de gestação), Hamsters (última semana de gestação) e macacas (3º trimestre de gestação) prenhas e avaliaram a distribuição materna, a transferência placentária e a distribuição fetal da droga através da técnica de auto-radiografia. Os autores verificaram que o diazepam e seus metabólitos atravessam a barreira placentária e acumulam no tecido fetal.

Os fetos dos macacos tiveram alta concentração de diazepam e seus metabólitos em nervos periféricos, fígado, medula espinhal, rim, pulmão, gordura, cérebro e plasma. O acúmulo do diazepam e seus metabólitos no cérebro de fetos de macacos, medula espinhal e nervos periféricos pode explicar a hipoatividade e

hipotonicidade temporária que tem sido relatada em bebês humanos de mães que receberam diazepam durante o trabalho de parto.

Kai et al (1990), administraram buspirona (2,12 e 75 mg/Kg/dia-vo) em ratas prenhas, do 7º ao 17º dia de gestação, bem como nos filhotes, os quais receberam buspirona desde o nascimento até a fase adulta, observando aumento do peso do fígado, cérebro, ptuitária, adrenal e ovários.

O que ficou bastante evidente é que tanto diazepam quanto buspirona atravessam a placenta e podem acarretar alterações no desenvolvimento fetal.

As alterações ósseas se constituem em parâmetros para avaliar crescimento dos tecidos ditos duros.

O modelo experimental mais utilizado para avaliar toxicidade e crescimento dos tecidos ditos mole é a regeneração hepática, após hepatectomia parcial, segundo técnica de Higgins e Anderson (1931).

Haddad (1990), avaliou a regeneração hepática em ratos parcialmente hepatectomizados tratados com papaína (10 mg/Kg/dia-ip) por um período de 15 dias e observaram que o fígado de rato em regeneração não sofreu interferência em seu trabalho de síntese proteica quando os animais foram tratados com papaína durante 15 dias, bem como não apresentou alteração estatisticamente significativa nas atividades da TGO e TGP. O soro dos animais tratados apresentou aumento significativo da atividade da AST no 2º dia de experimentação, porém não mostrou alteração estatisticamente significativa na atividade da ALT nos dias 0, 2º, 10º e 15º de experimentação.

Em nosso trabalho nos utilizamos do modelo experimental do fígado em regeneração após hepatectomia parcial. Os parâmetros utilizados para avaliar a

toxicidade do diazepam i.p. e da buspirona i.p. administrados por 5 dias em rato, bem como a regeneração funcional foram as dosagens de AST e ALT.

Os resultados obtidos nos permitiram comprovar que os animais tratados apresentam médias de atividade da AST (Tabela D) e ALT (Tabela J) maiores que o grupo controle no período de 24 horas, enquanto que o grupo controle apresentou média de atividade maior que os grupos tratados (Tabelas E e K) no período de 120 horas.

Um grande número de autores pode observar alterações na atividade de algumas enzimas após hepatectomia parcial em ratos, durante o período de regeneração hepática. Entre esses autores podemos destacar Tabucchi et al (1987); Schofield et al (1986) e Andersen e cols (1984).

Estas observações revelaram que algumas enzimas apresentam queda na sua atividade, enquanto outras um aumento.

No trabalho de Bengmark et al (1968) que avalia ratos machos entre 2 e 18 meses após hepatectomia parcial não encontraram diferenças significantes no que diz respeito ao corpo, fígado, peso do baço, bem como não encontraram diferenças na concentração de nitrogênio ou atividade de TGO e TGP.

Baseados nas dosagens das transaminases podemos sugerir que por volta do 15º dia a regeneração funcional do fígado já atingiu um estágio bem próximo do normal.

Segundo Bucher (1963), aos trinta dias de regeneração, o fígado de rato está completamente restaurado, entretanto Mattos Filho (1976) observou que a regeneração funcional do fígado, com relação ao metabolismo do metohexital, não havia se estabelecido aos trinta dias de experimento.

Esses achados científicos só vêm ratificar a complexidade e importância do fígado como modelo experimental de tecido mole em crescimento.

## **CONCLUSÕES**



## CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho e com as nossas condições experimentais, podemos concluir que:

- 1- A média de atividade da AST do grupo B<sub>3</sub>, no período de 24 horas, foi significativamente maior que as médias de atividades dos grupos buspirona (B<sub>2</sub>) e controle (C), ao nível de 1%.
- 2- A média de atividade da AST do grupo controle (C), no período de 120 horas, foi significativamente maior que as médias de atividade dos grupos diazepam (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>) e buspirona (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>), ao nível de 1%.
- 3- A média de atividade da ALT do grupo controle (C), no período de 24 horas, foi significativamente menor que as médias de atividade dos grupos buspirona (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>) e diazepam (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>), ao nível de 1%, bem como os grupos diazepam (D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>) apresentaram médias de atividades significativamente maiores que o grupo buspirona (B<sub>2</sub>), ao nível de 1%.
- 4- A média de atividade da ALT do grupo buspirona (B<sub>1</sub>) no período de 120 horas, foi significativamente menor que as médias de atividade dos grupos diazepam (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>) e controle, ao nível de 1%.

## **SUMMARY**

## SUMMARY

The author studied comparatively the toxicity induced by diazepam and buspirona in the process of hepatic regeneration of 42 rats partially hepatectomized.

The animals received I.P. diazepam and buspirona (0.42, 0.85 and 1.7 mg/Kg/day) during 5 days since the partial hepatectomy date, and aspartate aminotransferase( AST) and alanine aminotransferase( ALT) levels were recorded in the periods of 0 (zero), 24 and 120 hours.

The results revealed means of activity higher of AST for the groups treated in a 24 hours period and lower for the group with a 120 hours period when compared to the control group. Means of activity higher of ALT were related for the 24 hours period group when compared to the control group.

KEY WORDS - 1. Drug toxicity, 2. Diazepam, 3. Psychopharmacology and liver function tests.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

01. ANDERSEN, B., ZIERZ, S., JUNGERMANN, K. Alteration in zonation of succinate dehydrogenase phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucose-6-phosphatase in regenerating rat liver. Histochemistry, New York, v.80, n.1, p.97-101, 1984.
02. ALLEN, L.E., FERGUSON, H.C., KISSEL, J.W. Psychosedative agents. 2. 8-(4-substitute 1-pirerazinyllalky)-8-azaspiro (4.5) decane-7, 9-diones. J. med. Chem., Washington, v.15, n.5, p.477-9, May. 1972.
03. ARAÚJO, C.E.P. Efeito de um antifúngico derivado imidazólico cetoconazol, sobre o perfil enzimático da aspartato-aminotransferase e alanina-aminotransferase no soro de ratos parcialmente hepatectomizados. Piracicaba: FOP/UNICAMP, 1992. 108p. [Tese (Mestrado) em Farmacologia]
04. AUGUSTINE, S.L., SWICK, R.W. Turnover of total proteins and ornithine aminotransferase during liver regeneration in rats. Am. J. Physiol., Boston, v.238, n.1, p.E46-E52, Jan. 1980.

---

\* De acordo com a NBR-6023, de agosto de 1989, da Associação Brasileira de Normas Técnicas. Abreviatura dos periódicos conforme o "World hist of Scientific Periodicals".

05. BENESOVÁ, O. et al. Early postnatal diazepam treatment of rats and neuroimmunocompetence in adulthood and senescence. Ann. N.Y. Acad. Sci., New York, v.717, p.89-101, June. 1994.
06. BENGMARK, S., OLSSON, R., REHNSTROM, B. Late changes after partial hepatectomy in the normal rat. Scand. J. Gastroent., Noruega, v.3, n.5, p.525-8, 1968.
07. BIGGIO, G., COSTA, E. (eds.). Chloride channels and their modulation by neurotransmitters and drugs. Adv. Biochem. Psychopharmacol., United States, v.45, p.1-384, 1988.
08. BLASTER, R.L., WOOLVERTON, W.L. Intravenous buspirone self-administration in rhesus monkeys. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, p.34-37, Dec. 1982.
09. BRUSCALUPI, G. et al. Plasma membrane changes associated with rat liver regeneration. Biochim. biophys. Acta, New York, v.597, n.2, p.263-73, Apr. 1980.
10. BUCHER, N.L.R. Regeneration of mamalian liver. Int. Rev. Cytol., New York, v.15, p.245-300, 1963.

11. COLE, J.O. et al. Assessment of the abuse liability of buspirone in recreational sedative users. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, p.69-74, Dec. 1982.
12. DEVI, S., SINGH, S. Maternal administration of papain and its effect on the brain of rat foetuses. Indian J. med. Res., Calcutta, v.69, p.671-9, Apr. 1979.
13. EISON, S.M. Use of animal models: Toward anxiolytic drugs. Psychopathology, Basel, v.17, n.1, p.37-44, 1984. [supplement 1].
14. FEIGHNER, J.P., MERIDETH, C.H., HENDRICKSON, G.A. A double-blind comparison of buspirone and diazepam in patients with generalized anxiety disorder. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, p.103-107, Dec. 1982.
15. GARRIDO, M. Factores de regulacion en la regeneracion hepática. Revta clin. esp., Madrid, v.109, n.2, p.101-6, abr. 1968.
16. GELLER, I., HARTMANN, R.J. Effects of buspirone on operant behavior of laboratory rats and cynomolgus monkeys. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, p.25-32, Dec. 1982.
17. GILMAN, A.G. et al. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991, caps. 17 e 18, p.228-287.

18. GOLDBERG, H.L. Benzodiazepine and nonbenzodiazepine anxiolytics. Psychopathology, Basel, v.17, n.1, p.45-55, 1984. [supplement 1].
19. \_\_\_\_\_, FINNERTY, R.J. The comparative efficacy of buspirone and diazepam in the treatment of anxiety. Am. J. Psychiatry, Baltimore, v.136, n.9, p.1184-87, Sept. 1979.
20. \_\_\_\_\_, FINNERTY, R.J. Comparison of buspirone in two separate studies. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, p.87-91, Dec. 1982.
21. HADDAD, P.C. Estudo da regeneração ponderal e funcional de fígado de ratos, parcialmente hepatectomizados, submetidos a tratamento com papaína. Piracicaba: FOP/UNICAMP, 1990. 74p. [Tese (Mestrado em Farmacologia)].
22. HERNÁNDEZ-ALVAREZ, L.A.I., MÁRQUEZ-OROZCO, M.C., MÁR-QUEZ-OROZCO, A. Effects of prenatal administration of diazepam on the ovary of mice. Proc. West. Pharmacol. Soc., Seattle, v.34, p.379-382, 1991.
23. HIGGINS, G.M., ANDERSON, R.M. Experimental pathology of the liver. 1. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. Archs Path., Chicago, v.12, p.186-202, 1931.



24. IDÄN PÄÄN-HEIKKILÄ, J.E. et al. Placental transfer of diazepam-14C in mice, hamsters and monkeys. J. Pharmac. exp. Ther., Baltimore, v.176, p.752-757, Mar. 1971.
25. JOHNSON, D.R. The effect of a single injection of papain on growth of the limb bones of the mouse. Growth, Menasha, v.42, n.1, p.27-30, Mar. 1978.
26. KAI, S. et al. Reproductive and developmental toxicity studies of buspirone hydrochloride (I)-Oral administration to rats during the period of fetal organogenesis. J. Toxicol. Sci., Japan, v.15, n.1, p.31-60, Apr. 1990.
27. KLEIN, D.F. et al. Diagnosis and drug treatment of psychiatric disorders: adults and children. 2.ed. Williams & Wilkins: Baltimore, 1980. 120p.
28. KOLASA, et al. Neurochemical effects of buspirone, a novel psychotropic drug, on the central cholinergic system. J. Pharm. Pharmacol., London, v.34, n.5, p.314-17, May. 1982.
29. KOZLOWSKI, JUNIOR, V.A. & MATTOS FILHO, T.R. Effect of H1 and H2 receptor antagonists on the serum activity of gamma-glutamyltransferase during liver regeneration after partial hepatectomy in rats. Pharmacology, Basel, v.51, n.2, p.134-136, 1995.

30. LIVEZEY, G.T. et al. Prenatal exposure to diazepam results in enduring reductions in brain receptors and deep slow wave sleep. Brain Res., Netherlands, v.334, n.2, p.361-365, May. 1985.
31. MALICK, J.B. et al (eds.). Anxiolytics: neurochemical behavioral and clinical perspectives. New York: Raven Press, 1983.
32. MÁRQUEZ-OROZCO, A., MÁRQUEZ-OROZCO, M.C., ALCÁNTARA-ORTIGOZA, M.A. Effects of prenatal administration of diazepam on the cerebral cortex of adult mice. Proc. West. Pharmacol. Soc., Seattle, v.35, p.47-52, 1992.
33. \_\_\_\_\_, MÁRQUEZ-OROZCO, A., GAZCA-RAMIREZ, M.V. Effects of diazepam on the ultrastructure of fetal mice hepatocytes. Proc. West. Pharmacol. Soc., Seattle, v.36, p.113-16, 1993.
34. MATTOS FILHO, T.R. Influência da hepatectomia parcial no tempo de sono pelo metohexital, em ratos. Piracicaba: FOP/UNICAMP, 1976. 56p. [Tese (Mestrado em Farmacologia)].
35. MEHANNY, S.Z., ABDEL-RAHMAN, M.S., AHMED, Y.Y. Teratogenic effect of cocaine and diazepam in C.F 1 mice. Teratology, New York, v.43, p.11-17, Jan. 1991.

36. MILLER, R.P., BECKER, B.A. Teratogenicity of oral diazepam and diphenylhydantoin in mice. Toxic. appl. Pharmac., New York, v.32, n.1, p.53-61, Apr. 1975.
37. MORSELLI, P.L. Psychotropic drugs. In: \_\_\_\_\_, (ed.) Drug disposition development. New York: Spectrum, 1977. p.431-74.
38. MOSKOWITZ, H., SMILEY, A. Effects of chronically administered buspirone and diazepam on driving-related skills performance. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, p.45-55, Dec. 1982.
39. NAKATA, R. et al.  $\alpha$ -adrenergic regulation of the activity of thymidylate synthetase and thymidine kinase during liver regeneration after partial hepatectomy. Eur. J. Pharmac., Netherlands, v.114, n.3, p.355-60, Aug. 1985.
40. NEWTON, R.E. et al. The side effect profile of buspirone in comparison to active controls and placebo. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, p.100-102, Dec. 1982.
41. POLC, P. Electrophysiology of benzodiazepine receptor ligands: Multiple mechanisms and sites of action. Prog. Neurobiol., New York, v.31, n.5, p.349-423, 1988.
42. PRINCEN, H.M.G. et al. Distribution of mRNAs of fibrinogen polypeptides and albumin in free and membrane-bound polyribosomes and induction of  $\alpha$ -

- fetoprotein mRNA synthesis during liver regeneration after partial hepatectomy. Biochim. biophys. Acta, New York, v.699, n.2, p.121-30, Nov. 1982.
43. REMMER, H., MERKER, H.J. Drug-induced changes in the liver endoplasmatic reticulum. Association with drug-metabolizing enzymes. Science, New York, v.142, p.1657-8, 1963.
44. RIBLET, L.A. et al. Pharmacology and neurochemistry of buspirone. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, p.11-8, Dec. 1982.
45. RICKELS, K. et al. Buspirone and diazepam in anxiety: a controlled study. J. clin. Psychiatry, Memphis, v.43, n.12, pt.2, p.81-6, Dec. 1982.
46. \_\_\_\_\_, et al. Long-term treatment of anxiety and risk of withdrawal: Prospective comparasion of clorazepate and buspirone. Arch. gen. Psychiatry, Chicago, v.45, n.5, p.444-50, May. 1988.
47. ROSENBAUM, J.F. The drug treatment of anxiety. New Engl. J. Med., Boston, v.306, n.7, p.401-404, Feb. 1982.
48. SCHOFIELD, P.S., KERBEY, A.L., SUGDEN, M.C. Hepatic pyruvate metabolism during liver regeneration after partial hepatectomy in the rat. Int. J. Biochem., England, v.18, n.5, p.453-8, 1986.

49. SINGH, S., DEVIS, D. Effect of maternal administration of pappain on rat foetal liver and kidney. Indian J. med. Res., Calcutta, v.72, p.300-7, Aug. 1980.
50. SKOLNICK, P., PAUL, S.M. Benzodiazepine receptors in the central nervous system. Int. Rev. Neurobiol., United States, v.23, p.103-40, 1982.
51. STUDY, R.E., BARKER, J.L. Cellular mechanisms of benzodiazepine action. J. Am. med. Ass., Chicago, v.247, n.15, p.2147-51, Apr. 1982.
52. USDIN, E. et al. (eds.). Pharmacology of benzodiazepines. London: MacMillan, 1982.
53. TABUCCHI, A. et al. Behavior of L-threonine-degrading enzymes during liver regeneration. Biochim. biophys. Acta., New York, v.926, n.2, p.177-85, Nov. 1987.
54. TSUKAMOTO, I., KOJO, S. Effect of calcium channel blockers and trifluoperazine on rat liver regeneration. Eur. J. Pharmac., Amsterdam, v.144, n.2, p.159-62, Dec. 1987.
55. WIDDOWSON, E.M. Effect of papain on the skeletal and general development of the rat. Nutr. Metab., Basel, v. 22, n.6, p.321-56, 1978.