



UM ESTUDO QUANTITATIVO DA FASE PRE-CONVULSIVA DA CRISE
AUDIOGENICA NO RATO ALBINO

Este exemplar corresponde a Redação Final
da Tese Defendida pelo candidato Roberto
Fonseca Zepka e aprovada pela Comissão
Julgadora: Campinas, 26 de Fevereiro de
1992.

ROBERTO FONSECA ZEPKA ⁴⁸

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual
de Campinas, como parte dos re-
quisitos necessários para obten-
ção do título de Mestre em
Ciências Biológicas, área de
Fisiologia.

Orientador:
Renato Marcos Endrizzi Sabbatini

Campinas - 1992

Z48e

16223/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Renato M. E. Sabbatini pela orientação, apoio e amizade que ofereceu-me durante todo o desenvolvimento do trabalho.

A Dra. Elenice A. M. Ferrari pela amizade e colaboração na realização dos experimentos.

A Ana Paula P. Baltieri pela prontidão, paciência e auxílio companheiro na preparação dos animais e coleta dos dados.

O presente trabalho, realizado no Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, foi subvencionado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo Fundo de Apoio ao Ensino e à Pesquisa (FAEP) da Universidade Estadual de Campinas.

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Conceito e caracterização da epilepsia audiogênica ..	1
1.2. A fase motora procursiva da crise audiogênica.....	3
1.3. Neurobiologia da crise audiogênica.....	5
1.3.1. Início e propagação do ataque audiogênico hipóteses.....	12
1.4. Fatores que afetam o ataque audiogênico.....	14
1.4.1. Fatores ontogenéticos.....	14
1.4.2. Fatores que induzem a suscetibilidade.....	14
1.4.3. Fatores relativos ao estímulo.....	16
1.4.2.1. Frequência do estímulo.....	16
1.4.2.2. Intensidade do estímulo.....	17
1.4.2.3. Interrupção do estímulo.....	17
1.6. Justificativa do tema.....	19
2. OBJETIVOS.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Material.....	22
3.1.1 Animais.....	22
3.1.2 Aparato experimental.....	23
3.2 Procedimentos.....	33
3.2.1 Testes de estimulação audiogênica.....	33
3.2.2 Tratamento dos Dados.....	36

4.RESULTADOS.....	38
4.1. ANÁLISE DO EFEITO DA INTENSIDADE DE ESTIMULAÇÃO SONORA SOBRE A FASE MOTORA PRÉ-CONVULSIVA DA CRISE AUDIOGÊNICA.....	38
4.1.1 Distribuição dos tipos de corrida audiológica em relação à intensidade do estímulo sonoro aplicado.....	38
4.1.2. Efeito da intensidade sonora sobre a latência de início e final das corridas procursivas.....	40
4.1.3. Efeito da intensidade sonora sobre a duração e velocidade das corridas.....	47
4.2. EFEITO DA INTERRUPÇÃO DO ESTÍMULO SONORO SOBRE A FASE MOTORA PRÉ-CONVULSIVA DA EPILEPSIA AUDIOGÊNICA.....	50
4.2.1.Distribuição dos tipos de corridas pré- convulsivas em relação aos grupos expe- rimentais de interrupção do estímulo sonoro.....	50
4.2.2. Efeito interrupção do estímulo sonoro sobre o início e término da atividade motora procursiva.....	54
4.2.3. Efeito da interrupção do estímulo sonoro sobre a latência entre os episódios de corridas bifásicas.....	72
4.2.4. Efeito da interrupção do estímulo sonoro sobre a duração, intensidade e velocidade das corridas procursivas.....	76

5. DISCUSSAO.....	86
5.1 ANALISE DO EFEITO DA INTENSIDADE DO ESTÍMULO SONORO SOBRE OS EPISÓDIOS DE CORRIDA DA FASE PRÉ-CONVULSIVA DO ATAQUE AUDIOGÊNICO.....	86
5.2 ANALISE DO EFEITO DA INTERRUPÇÃO DO ESTÍMULO SONORO SOBRE OS EPISÓDIOS DE CORRIDA DA FASE PRÉ-CONVULSIVA DO ATAQUE AUDIOGÊNICO.....	90
5.2.1 Efeito sobre a frequência dos ataques audio- gênicos.....	90
5.2.2 Efeito sobre o início, término, duração e velocidade dos episódios de corrida.....	93
5.3 Considerações finais.....	96
6. CONCLUSÕES.....	105
7. RESUMO.....	107
8. ABSTRACT.....	108
9. BIBLIOGRAFIA.....	109
10. APÊNDICE	120

1. INTRODUÇÃO

Muito da atual informação sobre epilepsia provém de estudos utilizando modelos animais. Estes modelos constituem equivalentes clínicos em animais de diversos tipos de convulsão encontrados em humanos. Muitas das questões importantes referentes a epilepsia, tais como sua base neural, gênese e técnicas anticonvulsivas, vem sendo pesquisadas largamente com a utilização direta ou indireta destes modelos. Com tal finalidade, dezenas de modelos animais de epilepsia tem sido reportados, apresentando características de muitos tipos de epilepsias, como epilepsias do tipo parcial aguda, crônica e complexa, bem como convulsões do tipo generalizado. A procura por tais modelos tornou-se intensa nos últimos anos, a ponto de seu número totalizar um valor bem maior que o número de desordens encontrados na epilepsia clínica humana (FISHER, 1989). O ataque audiogênico, crise audiogênica ou epilepsia audiogênica é um dos mais antigos modelos animais em epilepsia e constitui o modelo mais importantes de epilepsia reflexa tônico-clônica generalizada.

1.1 Conceito e caracterização da epilepsia audiogênica

A crise audiogênica ou epilepsia audiogênica é um fenômeno convulsivo generalizado deflagrado pela exposição à estimulação sonora intensa (COLLINS, 1972; SEYFRIED, 1979), tendo sido verificado experimentalmente em roedores como o

rato (CONSROE, PICCHIONI e CHIN, 1979), camundongo (SEYFRIED, 1979) e coelho (NELLHAUS, 1963).

O ataque, que ocorre em resposta à estimulação sonora intensa no animal suscetível, aparece de forma bem característica. Consiste em um comportamento inicial de alerta que coincide com o início da apresentação do estímulo sonoro, onde o animal apresenta-se confuso ou surpreso. Após um período de vários segundos, segue-se um episódio de corrida circular de alta intensidade que freqüentemente é associado a pulos e choques contra as paredes da caixa experimental. Esta fase é chamada de fase procursiva (SABBATINI, 1981) ou fase de corrida pré-convulsiva (SCHREIBER, LEHMANN, GINSBURG e FULLER, 1980) e pode se apresentar uma ou mais vezes durante um ataque, interrompidas por períodos de latência. A corrida pré-convulsiva pode levar diretamente a uma fase convulsiva. Esta pode ser predominantemente de caráter tônico ou com comportamento clônico não coordenado dos membros, ou mesmo apresentando aspectos tônicos e clônicos combinados. Segundo CHANCE (1963) durante a fase tônica da convulsão muitos comportamentos são observados com freqüência nos animais, como: vocalização, exoftalmia, excesso de salivação, piloereção, diminuição da respiração e cianose, podendo até ocorrer a morte do animal neste período. Entretanto, a morte do animal durante a convulsão tônica não é um fenômeno comum em ratos (FINGER, 1947). Após o período convulsivo os animais apresentam um estado semelhante ao cataléptico, caracterizado por acinesia e arreflexia. Este estado é

por vários segundos ou minutos, podendo ser interrompido pela influência de um novo estímulo sonoro de intensidade similar a do primeiro estímulo, sem, necessariamente, pertencer a mesma fonte sonora (PROKOPETZ, 1963). O animal recupera seu comportamento normal após um período de alguns segundos ou minutos. Dependendo da cepa genética empregada, uma nova crise audiogênica poderá ser provocada em um período que varia de alguns minutos a horas (WARD, 1971). Cada uma destas fases e suas variações tem sido descritas com detalhes em diversos textos de revisão (COLLINS, 1972; SEYFRIED, 1979; CONSROE et al., 1979).

A ocorrência de animais suscetíveis a crise audiogênica na população geneticamente heterogênea é, segundo COLLINS (1972), bastante baixa. Dado este fato, e o caráter de influência genética deste fenômeno, diversos laboratórios iniciaram já há alguns anos um trabalho com a finalidade de desenvolver animais suscetíveis por meio de técnicas de endocruzamento. Atualmente diversas cepas de camundongos e ratos são disponíveis, dentre elas os camundongos DBA/2j e os ratos GEPR (genetically epilepsy-prone rat) (revisão em FISHER, 1989).

1.2. A fase motora procursiva da crise audiogênica

Segundo SABBATINI (1981) três tipos distintos de corridas circulares são identificados em ratos na fase procursiva (Tabela 1).

Os ataques em geral podem ser classificados em duas formas: ataques monofásicos e ataques bifásicos (KRUSHINSKY, 1963). Os ataques do tipo monofásico apresentam somente uma fase de corrida. Esta corrida pode ser seguida de crise convulsiva (tipo C3) ou não (tipo C1). Nos ataques bifásicos

Tabela 1 Tipos de corridas observadas em ratos suscetíveis à estimulação auditiva intensa.

Tipo	Característica
C1	corrida curta e intensa interrompida por um período de inatividade.
C2	corrida longa, intensa no início com decréscimo da intensidade ao longo do tempo, freqüentemente interrompida por saltos e períodos de breve inatividade.
C3	corrida similar a C1, terminada em convulsão tônica e/ou clônica de todos os membros e perda da postura e inibição pós-ictal.

são identificadas duas fases de corrida intercaladas por um período de latência de tamanho bastante variado. Estas crises em geral apresentam corridas do tipo C1 e C3 ou do tipo C1 e C2, porém corridas do tipo C1C1 também foram observadas (SABBATINI, 1981). Ataques trifásicos com três episódios de corrida são descritos por SABBATINI (1981). O autor observou crises do tipo 3C1, 2C1C2 e 2C1C3, com períodos de latência entre as corridas. A frequência deste tipo de ataque é referida, no entanto, como bastante reduzida.

Várias evidências tem demonstrado que a corrida pré-convulsiva é parte integrante da crise audiogênica. WILLOT (1974) descreve uma redução na severidade da convulsão au-

diogênica em camundongos imobilizados. Outros estudos tem revelado uma relação simétrica bastante precisa entre a direção da corrida procursiva e o lado para o qual o animal cai durante a fase convulsiva do ataque (REID e COLLINS, 1982; WARD e COLLINS, 1971).

Estudos mais recentes tem investigado com maior profundidade esta fase do ataque audiogênico. REID e COLLINS (1989b) identificaram em camundongos uma associação entre a ocorrência de corridas bifásicas com a estimulação acústica binaural e de corridas monofásicas com experimentos de estimulação monoaural, com a oclusão de um ouvido com glicerina. O mecanismo deste fenômeno foi interpretado pelos autores como decorrente da sensibilização assimétrica de estruturas neurais envolvidas na crise, como o colículo inferior ou mesmo o hipocampo.

1.3. Neurobiologia da crise audiogênica

Diversos pesquisadores utilizando técnicas variadas de investigação tem contribuído de maneira relevante ao estudo dos mecanismos responsáveis pela deflagração e propagação da epilepsia audiogênica. Estes estudos tem indicado que a crise audiogênica é provavelmente um fenômeno originado em sistemas neurais "inferiores" (mesencéfalo e romboencéfalo), sendo classificada, segundo BROWNING (1985), como uma convulsão originada no tronco cerebral, a exemplo das convulsões provocadas por eletrochoque transcraniano através das orelhas (BROWNING e NELSON, 1985) ou por estimulação da for-

mação reticular (CHIU e BURNHAM, 1982). Embora ainda existam muitas dúvidas relativas ao substrato neural envolvido no ataque audiogênico, numerosos experimentos tem revelado a importância de diversas estruturas neurais neste processo. As estruturas de maior relevância envolvidas no ataque tem sido consideradas como o colículo inferior e superior, a formação reticular e a substância nigra, embora seja sugerido a influência moduladora sobre o ataque de muitas outras estruturas como a área septal, córtex, núcleo caudato e hipocampo.

Diversos investigadores tem descrito o colículo inferior como o sítio epileptogênico dos ataques provocados pela estimulação auditiva (FRYE, McCOWN e BREESE, 1983; McCOWN, GREENWOOD, FRYE e BREESE, 1984). Esta é a única estrutura cuja lesão bilateral é capaz de abolir por completo e permanentemente a manifestação de todos os componentes da crise audiogênica em ratos (KESNER, 1966; WADA, TERAOKA, WHITE e JUNG, 1970). Porém, em camundongos, WILLOT e LU (1980) tem relatado a preservação do componente de corrida pré-convulsiva em alguns dos animais submetidos a este tipo de lesão. O envolvimento do colículo inferior na crise audiogênica foi também evidenciado com a utilização de técnicas de estimulação elétrica (McCOWN, GREENWOOD e BREESE, 1987). A estimulação elétrica do colículo inferior é descrita como eficaz para a produção de episódios violentos de corrida muito semelhantes aos observados na fase procursiva do ataque audiogênico. Efeito semelhante foi obtido com a microinjeção do aminoácido excitatório de caráter convulsivante *N*-metil-

D-aspartato (NMDA) no colículo inferior de ratos resistentes (MILLAN, MELDRUM e FAINGOLD, 1986), bem como de picrotoxina (PTX) (FRYE, McCOWN, BREESE e PETERSON, 1986) de bicuculina (McCOWN et al., 1984) e derivados de AMP cíclico (LUDVIG e MOSHE, 1987). FAINGOLD, MILLAN, BOERSMA e MELDRUM (1988) sugerem ainda que qualquer modificação, farmacologicamente induzida, da excitabilidade do colículo inferior altera de forma significativa a resposta obtida durante o ataque audiogênico. Evidências eletrofisiológicas de eventos epileptiformes nesta estrutura são relatadas em um estudo com fragmentos de colículo inferior perfundidos em antagonistas de GABA (PIERSON, SMITH e SWANN, 1989). Tal investigação registrou pela primeira vez a capacidade do colículo inferior de manter uma atividade epileptiforme, ou seja, uma atividade sincrônica anormal no disparo dos neurônios. Esta atividade anormal poderia representar o sítio epileptogênico do ataque induzido por estimulação sonora.

Todos estes resultados, bem como dados neuroanatômicos, sugerem que o colículo inferior representa um importante papel no desenvolvimento da crise audiogênica. Esta estrutura tem sido descrita como uma estação retransmissora de grande importância entre os núcleos auditivos. Ela recebe múltiplos sinais processados através de diferentes circuitos deste sistema. Além das múltiplas ligações no sistema auditivo, o colículo inferior tem conexões eferentes com diversas regiões subcorticais, incluindo o colículo superior e a formação reticular (BRODAL, 1981).

A participação das camadas profundas do colículo superior na deflagração do ataque audiogênico também é sugerida por FAINGOLD, GEHLBACH, TRAVIS e CASPARY (1986). Segundo os autores, o colículo superior, bem como a formação reticular mesencefálica e pontina teriam um papel importante na propagação da atividade epileptiforme sincronizada do colículo inferior para medula espinhal, onde se manifestaria o comportamento motor característico do ataque audiogênico. Esta hipótese seria enfatizada pelo fato de que a infusão de agentes convulsivos nestas estruturas produziriam, a exemplo do colículo inferior, um episódio de corrida circular explosiva muito semelhante a corrida pré-convulsiva apresentada no início da crise audiogênica (COOLS, COOLEN, SMIT e ELLENBROEK, 1984; IMPERATO e DI CHIARA, 1981). Resultados similares foram obtidos com substâncias antagonistas de GABA injetadas diretamente nas camadas profundas desta estrutura (YAMASHITA e HIRATA, 1978; MILLAN et al., 1986).

Os dados provenientes dos experimentos de lesão do colículo superior não são ainda muito claros. Segundo BROWNING, NELSON, MOGHARREBAN, JOBE e LAIRD (1985), lesões bilaterais do colículo superior não determinam modificação detectável da crise audiogênica, em ratos geneticamente suscetíveis (GEPR). Também WADA et al. (1970), realizando lesões bilaterais do colículo superior de ratos, suscetibilizados a convulsão audiogênica por pré-tratamento com sulfóximo de metionina, não descreveram nenhum tipo de alteração sobre a crise. Por outro lado, WILLOT e LU (1980)

obtiveram uma atenuação do ataque em camundongos DBA/2 submetidos a lesão de camadas profundas do colículo superior.

A formação reticular mesencefálica e pontina parecem exercer um papel importante como sítio propagador não só do fenômeno convulsivo audiológico, como na expressão de diversos tipos de convulsões generalizadas (BROWNING, 1986). A ausência da formação reticular mesencefálica e pontina em ratos, promovida por lesões eletrocoagulativas, determinam a supressão de todos os componentes da crise audiológica, com exceção da corrida pré-convulsiva (KESNER, 1966; BROWNING et al., 1985). BROWNING et al., (1985) relatam um efeito atenuador do ataque, similar ao descrito, com lesões isoladas do núcleo *reticularis pontis oralis*. FAINGOLD et al. (1988), mais recentemente, investigando a microinfusão na formação reticular do aminoácido excitatório de ação anticonvulsiva 2-amino-7-fosfonoheptanoato (APH), que bloqueia a ação de diferentes subtipos de receptores, obtiveram também resultados semelhantes. Conforme COOLS et al. (1984), a infusão de agentes convulsivos na formação reticular determina o aparecimento de corridas procursivas muito similares às da fase inicial do ataque audiológico, embora a convulsão obtida através da estimulação elétrica desta estrutura apresente características diferentes da audiológica (HUXTABLE e LAIRD, 1978). A riqueza de conexões anatômicas entre a formação reticular e a substância nigra e com a medula espinhal (BECKSTEAD, DOMESICK e NAUTA, 1979 e BRODAL, 1981) vem a reforçar a importância desta estrutura na convulsão audiológica.

A substância nigra desempenha um papel importante em vários tipos de convulsões generalizadas (GALE, 1985; GALE, 1988). Esta estrutura é também considerada uma região de extrema importância nos mecanismos que promovem o fenômeno convulsivo audiogênico. Diferentemente do colículo inferior, a lesão eletrolítica bilateral da substância nigra não protege o animal completamente do ataque, porém reduz consideravelmente sua intensidade (BROWNING, 1986). Neste tipo de experimento é relatada somente a supressão da convulsão tônica nos animais, restando inalteradas as fases de corrida procursiva e a convulsão clônica. A aplicação de muscimol (agonista de GABA) na substância nigra também tem sido referida como efetiva na proteção contra convulsões tônicas em ataques induzidos em animais em síndrome de abstinência ao etanol (FRYE, et al., 1983). Resultados semelhantes foram obtidos por DEPAULIS, MARESCAUX, LIU e VERGNES (1990) em ratos Wistar machos. Entretanto, GONZALES e HETTINGER (1984) utilizando um tratamento similar ao de FRYE et al. (1983) relataram a supressão completa dos ataques audiogênicos em crises induzidos por abstinência ao etanol. MILLAN, MELDRUM, BOERSMA e FAINGOLD (1988) referem que a aplicação de 5 a 25 nm do aminoácido excitatório 2-amino-7-fosfonoheptanoate (APH), de ação anticonvulsivante, na substância nigra *pars reticulata*, teria a capacidade de suprimir por longo tempo a convulsão tônica do ataque audiogênico. Este efeito foi evidenciado de forma mais tênue e tardia para a aplicação de (APH) na *pars compacta* da substância nigra nas mesmas dosagens. Os autores sugerem, entre-

tanto, que este efeito tardio seria resultado não da ação do APH diretamente sobre a substância nigra *pars compacta*, mas da difusão da droga para a *pars reticulata* desta estrutura. No entanto, o efeito de lesões unilaterais na substância nigra *pars compacta* em ratos tem sido descritas como determinantes do aparecimento de crise em animais resistentes, assim como aumentam a severidade dos ataques em animais com baixa suscetibilidade (GARCIA-CAIRASCO e SABBATINI, 1983).

A modulação GABAérgica direta entre a substância nigra e o colículo inferior durante os episódios de corrida procursiva na crise audiogênica parece não ocorrer. Segundo os recentes experimentos de DEPAULIS et al. (1990) em ratos GEPR, a manifestação da corrida não é influenciada pelo o bloqueio das vias nigro-coliculares. Os resultados deste experimento indicam a existência de um mecanismo GABAérgico, possivelmente intrínseco, ao nível do colículo inferior. A ativação deste mecanismo bloquearia a crise e a inibição a potencializaria.

As evidências da participação da substância nigra no ataque audiogênico são enfatizadas pela situação neuroanatômica desta estrutura. Numerosas conexões eferentes da substância nigra *pars reticulata* com a formação reticular são relatadas por diversos autores (BECKSTEAD, et al., 1979; DENIAU, KITAI, DONOGHUE e GROFOVA, 1982; DUGGAL e BARASI, 1983; NIIJIMA e YOSHIDA, 1982; SHAMMAH-LAGNADO, RICARDO, SAKAMOTO e NEGRAO, 1983)

A função de diversas outras estruturas tem sido investigadas em relação a crise audiogênica. Embora estas

estruturas pareçam não representar um papel crucial na ataque, tem sido atribuído a elas uma função moduladora. Entre estas estruturas estão o córtex, septum, núcleo caudato, hipocampo e cerebelo.

Os dados relativos a experimentos com lesões no córtex cerebral são ainda contraditórios. Alguns investigadores observaram um decréscimo na severidade da crise em associação a lesões corticais (CHOCHOLOVA, 1962; WEINER e MORGAN, 1945), assim como em estudos com inativação cortical promovida por depressão alastrante induzida por KCL (KESNER, 1966). Outros autores, porém relatam resultados opostos utilizando métodos de decorticação ou lesões do neocórtex (BEACH e WEAVER, 1943). Animais com lesões do núcleo caudato apresentaram aumento significativo da severidade da crise, enquanto animais com lesões na área septal apresentaram atenuação (KESNER, 1966). Lesões do hipocampo aumentaram a severidade e reduziram a latência para o aparecimento da crise audiológica em ataques induzidos com a apresentação unilateral do estímulo sonoro (REID, BOWLER e WEISS, 1983). Um aumento significativo na severidade da crise audiológica foi também observado em animais com lesão da região antero-cerebelar (WILLOT e URBAN, 1978).

1.3.1. Início e propagação do ataque audiológico: hipóteses

Mecanismos teóricos, baseados no corpo de dados experimentais já existente, tem sido propostos para explicar

a deflagração e propagação do fenômeno convulsivo audiogênico no sistema nervoso. FAINGOLD et al.(1986) e FAINGOLD et al. (1988) sugerem um mecanismo de disparo do ataque audiogênico baseado em resultados obtidos em ratos GEPR, envolvendo a hiperexcitabilidade do colículo inferior. A atividade desta estrutura no animal normal, segundo os autores, é controlada por um componente excitatório e outro inibitório, provavelmente mediado por uma ação balanceada de aminoácidos excitatórios e inibitórios. Em ratos suscetíveis, como o GEPR, a estimulação acústica produziria uma maior liberação de aminoácidos excitatórios, não balanceada pelo componente inibitório, visto que a ação GABA é menos efetiva no colículo inferior destes animais do que nos animais normais. Este comportamento elevaria o número de neurônios responsivos, bem como a frequência de suas respostas, originando um padrão de atividade sincronizada epileptiforme. A atividade provinda do colículo inferior seria propagada a outras estruturas, como a substância nigra, colículo superior, e formação reticular mesencefálica e pontina. Esta propagação seria facilitada em animais suscetíveis por deficiências dos sistemas inibitórios, como os mediados por NE (BROWNING, WANG e FAINGOLD, 1991) ou GABA (GALE, 1988). A completa ativação do sistema, com a participação da medula espinhal, levaria à convulsão tônica, enquanto a ativação parcial levaria a um comportamento convulsivo do tipo clônico BROWNING (1985).

1.4. Fatores que afetam o ataque audiogênico

1.4.1. Fatores ontogenéticos

A influência da idade sobre a crise audiogênica é bastante variada, dependendo tanto da espécie animal considerada como cepa genética de suscetibilidade ao ataque. Camundongos DBA/2j, bem como os descritos por O'Grady tem sua suscetibilidade iniciada aproximadamente ao 12-17 dias. A suscetibilidade máxima é observada por volta do 21o. dia. Após este período é bastante reduzida, chegando a resistência completa na idade adulta (SWINYARD, 1963; CASTELLION, SWINYARD e GOODMAN, 1965; SEYFRIED, GLASER e YU, 1978; SEYFRIED, 1979). Já os camundongos da cepa A/J a conservam praticamente durante toda a vida um nível moderado (VICARI, 1957), enquanto os BALB/c só adquirem suscetibilidade na idade adulta (GATES e CHEN, 1975). No ratos suscetíveis derivados da seleção genética de Krushinsky, a primeira crise pode ser observada entre a 3a. e a 6a. semanas de vida (RAUSENBAKH e KOROCHKIN, 1972), assim como nos animais de Horák (STERC, 1963) e nos GEPR (THOMPSON e HOLMES, 1989). Porém, diferente do camundongo, a suscetibilidade dos ratos varia pouco ou permanece inalterada com o avanço da idade (STEC, 1963; THOMPSON e HOLMES, 1989).

1.4.2. Fatores que induzem a suscetibilidade

Camundongos inicialmente resistentes a crise audiogênica tornam-se suscetíveis através de uma exposição prévia a um estímulo sonoro. Este fenômeno é denominado *priming*

(SEYFRIED, 1979). Animais resistentes, submetidos a exposição a um estímulo sonoro intenso (90 a 120 dB) de duração variada, 1 a 5 segundos, apresentam, de 36 a 48 horas mais tarde, suscetibilidade ao ataque audiogênico (HENRY, THOMPSON e BOWMAN, 1971; FULLER e COLLINS, 1968a). Se, no entanto, a estimulação for limitada a um único ouvido, bloqueando o outro com glicerina, a suscetibilidade subsequente será limitada ao ouvido que foi exposto (FULLER e COLLINS, 1968b) e resultará num ataque assimétrico, com o animal caindo sobre o lado não estimulado durante a convulsão (WARD e COLLINS, 1971). Esta áudio-sensitização tem sido referida também como dependente da idade. Um período de desenvolvimento mínimo, que varia nas diferentes cepas de camundongos, é necessário para se obter sucesso no *priming* (COLLINS, 1972).

Diversos pré-tratamentos tem sido relatados como eficazes na indução de ataques audiogênicos em animais não suscetíveis, entre eles o pré-tratamento com inúmeras drogas como, pentilenotetrazol, tiozecarbamina, estriquinina, cafeína, cânfor, picrotoxina (MERCIER, 1963; COLLINS, 1972). Outros fatores como substâncias ototóxicas (PIERSON e SWANN, 1988), trauma coclear em camundongos (CHEN, C-S, 1980) e em ratos resistentes (PIERSON e SWANN, 1991) também tem sido utilizadas com o mesmo propósito.

1.4.3. Fatores relativos ao estímulo

A influência dos fatores associados ao estímulo sonoro, como intensidade e frequência, despertaram grande interesse já nas primeiras investigações do fenômeno convulsivo audiológico. Buscando metodologias mais eficazes para a indução dos ataques, diversas fontes de estimulação sonora foram utilizadas, como o ruído de um molho de chaves, tubos metálicos, ar comprimido e ruído branco (conforme as citações em COLLINS, 1972). Atualmente, entretanto, a forma mais difundida de indução da crise audiológica é feita por meio de uma campainha elétrica de alta intensidade sonora, na faixa de 90 a 120 dB (com pressão ≥ 0.0002 dina/cm²), com frequências sonoras mistas.

1.4.2.1. Frequência do estímulo

A frequência do estímulo sonora tem efeito variado sobre a crise audiológica. De forma geral, A eficácia do estímulo parece aumentar com a elevação de sua frequência, alcançando um máximo de eficiência em ratos na faixa de 14 a 16 KHZ (KRUSHINSKY, 1963) e 12 a 16 em camundongos (RALLS, 1967; ALEXANDER e ALEXANDER, 1976). Muito embora os experimentos utilizando estimulação com tons puros tenham sido considerados não efetivos na indução da crise audiológica (WILLOT, HENRY e GEORGE, 1975), SCHREIBER (1978) estudando o efeito de tons puros na faixa de 15 a 35 KHZ refere um grau de suscetibilidade máxima de camundongos DBA/2J para estímulos com frequência de 20 KHZ.

1.4.2.2. Intensidade do estímulo

A elevação da intensidade da estimulação tem efeito direto na redução do período de latência do aparecimento do ataque. Conforme relata KRUSHINSKY (1963), o aumento da intensidade do estímulo sonoro é também acompanhado pelo aumento da intensidade da convulsão em ratos, ocorrendo por vezes a substituição de corridas bifásicas por ataques do tipo monofásicos. A análise em camundongos, revelou também uma relação quase linear entre a intensidade e a severidade da convulsão audiogênica (ALEXANDER e ALEXANDER, 1976).

1.4.2.3. Interrupção do estímulo

O efeito da interrupção do estímulo sonoro em diferentes momentos de ataque audiogênicos bifásicos foram investigados por REID e COLLINS (1986) em camundongos machos SJL/J sensibilizados por *priming* binaural e logo após submetidos a testagem monoaural. Esta técnica aumenta a incidência de ataques bifásicos no segundo momento de testagem (REID e COLLINS, 1986). Nove grupamentos com interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro foram considerados, conforme a Tabela 2.

Os resultados obtidos indicaram a existência de dois períodos críticos durante a fase pré-convulsiva. O primeiro no início da sessão experimental, antes de qualquer manifestação do ataque, onde a interrupção do estímulo sonoro aborta o ataque e o animal responde a reintrodução do estímulo como se este fosse parte de uma nova sessão experimen-

Tabela 2. protocolo experimental do estudo do efeito da interrupção do estímulo sonora em diferentes momentos da fase procursiva do ataque audiogênico (REID e COLLINS, 1986).

Grupamentos	Estímulo interrompido 15 seg.
Grupo controle	---
Grupo 1	3 seg. após início da sessão
Grupo 2	3 seg. após início da 1a. corrida
Grupo 3	no final da 1a. corrida
Grupo 4	5 seg. após fim da 1a. corrida
Grupo 5	10 seg. após fim da 1a. corrida
Grupo 6	15 seg. após fim da 1a. corrida
Grupo 7	20 seg. após fim da 1a. corrida
Grupo 8	3 seg. após início da 2a. corrida

tal. O segundo ponto crítico coincide com a interrupção do estímulo sonoro nos períodos caracterizados pelos grupos 6, 7 e 8 da Tabela 2. Neste momento da crise a interrupção do estímulo determina a supressão do resto do ataque. Este resultado indica a existência de um período crítico onde será ou não decidido a progressão da crise para a convulsão. Segundos os autores os dados obtidos neste experimentos sugerem que uma vez iniciada a crise não é afetada pela interrupção do estímulo sonoro, exceto no segundo período crítico, o que indica que este processo é deflagrado por um mecanismo do tipo "gatilho" e que o desenvolvimento do ataque audiogênico parece associado a uma sequência de eventos de progressão temporal bastante precisa. Assim, na fase pré-convulsiva do ataque audiogênico bifásico cada corrida parece ter uma função crítica particular na progressão do ataque. A corrida inicial determinaria as latências da segunda corrida e da fase convulsiva, enquanto a segunda corrida seria um ponto crucial, relacionado ao desenvolvimento ou não do ataque para a convulsão.

A análise dos ataques monofásicos terminados em convulsão, em camundongos sob sensibilização binaural, é descrita por REID e COLLINS (1989a), utilizando uma metodologia similar a apresentada acima (REID e COLLINS, 1986). A interrupção do estímulo no aparecimento da corrida procurativa é descrita como eficaz em evitar, na maioria dos animais, a progressão do ataque para a fase clônica. Entretanto, a reintrodução deste estímulo sonoro determinaria nestes animais um novo ataque monofásico terminado em convulsão, com latência para o aparecimento da corrida semelhante à latência observada para a primeira crise abortada. Desta forma, os autores sugerem que as duas corridas dos ataques bifásicos e a única corrida que precede os ataques monofásicos, embora de aspecto semelhante, são processos diferentes que ocorrem durante a progressão do ataque audiogênico.

1.6. Justificativa do tema

Embora o fenômeno convulsivo audiogênico seja estudado há mais de 70 anos, alguns aspectos do ataque permanecem ainda pouco compreendidos. Os episódios de corrida da fase pré-convulsiva constituem um exemplo típico. O profundo interesse de muitos pesquisadores na investigação da crise audiogênica associada a tratamentos anticonvulsivos, determinou um período, onde grande parte destes estudos eram restritos à fase convulsiva do ataque. Assim, a fase procurativa permaneceu no descaso, sendo que até pouco tempo, ainda

era questionada a participação ou não desta fase como parte integrante do fenômeno convulsivo audiogênico. O estudo dos episódios de corrida pré-convulsivos começaram a despertar maior interesse a partir de uma série de estudos comprovando a importância deste fenômeno na deflagração e no curso da crise (WARD e COLLINS, 1971; WILLOT, 1974). Atualmente, diversos autores tem advertido para a complexidade desta fase (McCOWN et al, 1984; REID e COLLINS, 1982, 1986, 1989a, 1989b). Os episódios de corrida procursiva parecem nos proporcionar uma visão bastante clara da excitabilidade do sistema neural envolvido no ataque audiogênico, e sua investigação detalhada, com auxílio de técnicas mais precisas de registro e análise, poderá contribuir de maneira significativa para a compreensão ampla dos mecanismos que determinam este processo.

2. OBJETIVOS

2.1 - Desenvolver um aparato semi-automático para o registro e análise básica dos episódios de corrida procursiva dos ataques audiogênicos, com o objetivo de avaliar com maior precisão os parâmetros relacionados a este fenômeno.

2.2 - Investigar quantitativamente o efeito da intensidade de estimulação sonora sobre a fase motora procursiva da crise audiogênica.

2.3 - Estudar quantitativamente os episódios de corrida circular que antecedem a convulsão audiogênica em diferentes situações experimentais de interrupção do estímulo sonoro.

2.4 - Estudar os parâmetros acima relacionados, avaliando as possíveis características de excitabilidade do sistema neural envolvido no ataque audiogênico.

3. MATERIAL E METODOS

3.1 Material

3.1.1 Animais

Na realização dos experimentos foram utilizados ratos albinos (*Rattus norvegicus*, variedade Wistar) procedentes do Biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, selecionados geneticamente para a ocorrência da crise audiológica. Os animais foram mantidos durante o experimento no Biotério da Departamento de Fisiologia e Biofísica da Universidade Estadual de Campinas, separados por sexo em gaiolas de metal em grupos contendo até nove animais, com acesso "ad libitum" a água e alimentação.

A partir destes animais foram constituídas dois grupos:

Grupo de animais do Experimento I: o primeiro grupo de animais, utilizado no experimento (I), constitui-se de 30 ratos adultos do sexo feminino, com idade aproximada de 9 meses durante o experimento.

Grupo de animais do Experimento II: o segundo grupo, utilizado no experimento (II), constitui-se de 12 ratos do sexo masculino e 18 ratos do sexo feminino, todos adultos, apresentando durante a experimento idade aproximada de 7 a 8 meses.

3.1.2 Aparato experimental

A observação, registro e análise do comportamento motor do ataque audiogênico, antes, durante e após a fase convulsiva, tem se mostrado um processo difícil e bastante subjetivo. Assim, com o objetivo de aprimorar a aquisição de parâmetros relacionados a convulsão audiogênica, foi desenvolvido um sistema semi-automático baseado em microcomputador para o registro e análise da atividade motora rotacional associada a fase pré-convulsiva deste ataque. O sistema era composto por um *hardware* para a aquisição digital do movimento circular, e um *software* de controle desenvolvido em linguagem BASIC.

a) Hardware.

Os componentes de hardware do sistema foram (Figura 1):

- Um microcomputador de 8-bits, MSX-compatível (HotBit, Sharp do Brasil) conectado a uma câmara experimental.

- Uma câmara de experimentação onde o animal era testado. A câmara era construída nas dimensões de 30x30x40cm em material de atenuação sonora, revestida internamente por chapas de metal galvanizado e iluminada por uma lâmpada de 40 Watts. Na parede frontal da caixa foi adaptada uma janela de vidro de visão unidirecional de 20x20 cm.

- Um sistema de estimulação sonora de um canal: o sistema era composto por dois alto-falantes de 100 Watts fixados na porção superior da câmara experimental; um amplificador de áudio de 100 Watts e um gravador portátil que reproduzia o som de uma campainha elétrica. O início e término da

emissão do estímulo sonoro na câmara experimental era controlado pelo microcomputador por intermédio do software.

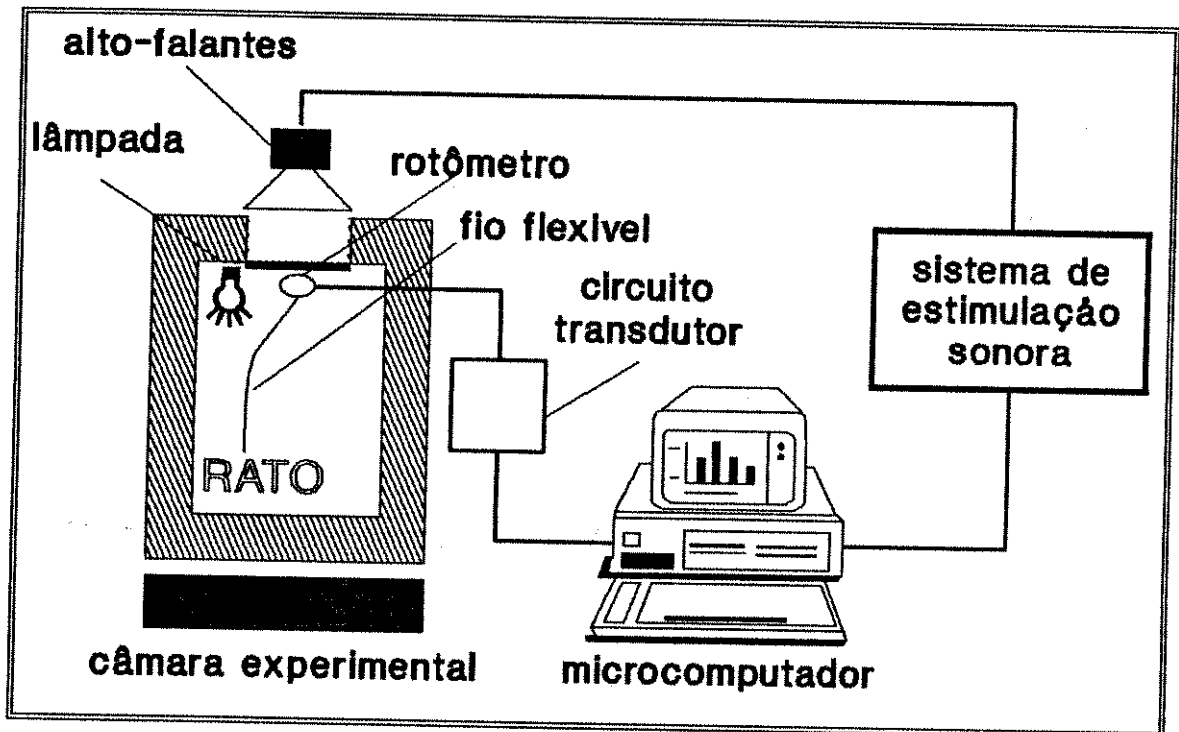


Figura 1 - Diagrama de bloco do aparato experimental

- Um rotômetro para a tradução dos movimentos circulares do animal em pulsos digitais, também fixado na porção superior da câmara experimental (Figura 2). O rotômetro era composto de um cilindro metálico adaptado a um rolamento de 7mm, de forma a permitir a livre movimentação do cilindro em torno de seu eixo. Ao corpo do cilindro era incorporado um disco com um conjunto de 4 perfurações eqüidistantes ao

longo de seu perímetro externo. Quando o cilindro girava, um fotointerruptor posicionado entre as duas faces do disco disparava um pulso a cada vez que uma perfuração era detectada (Figura 3). Na base do cilindro era fixado um fio metálico helicoidal e flexível ligado ao animal por meio de uma coleira adesiva. Desta forma, cada ciclo completo de corrida circular realizada pelo rato testado deflagrava quatro pulsos digitais no fotossensor. Estes sinais eram enviados a um circuito que os convertia em pulsos de padrão TTL. O circuito por sua vez remetia os pulsos ao microcomputador através da interface de *joystick* (Figura 4).

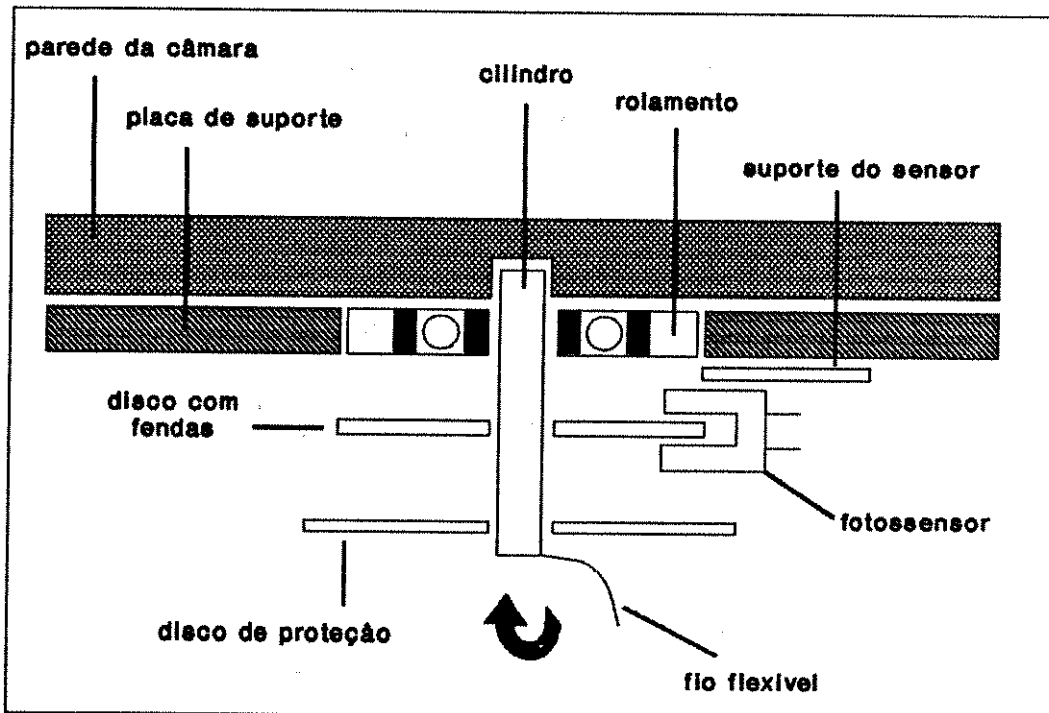


Figura 2 - Diagrama em corte lateral do rotômetro digital e sua relação com a câmara experimental.

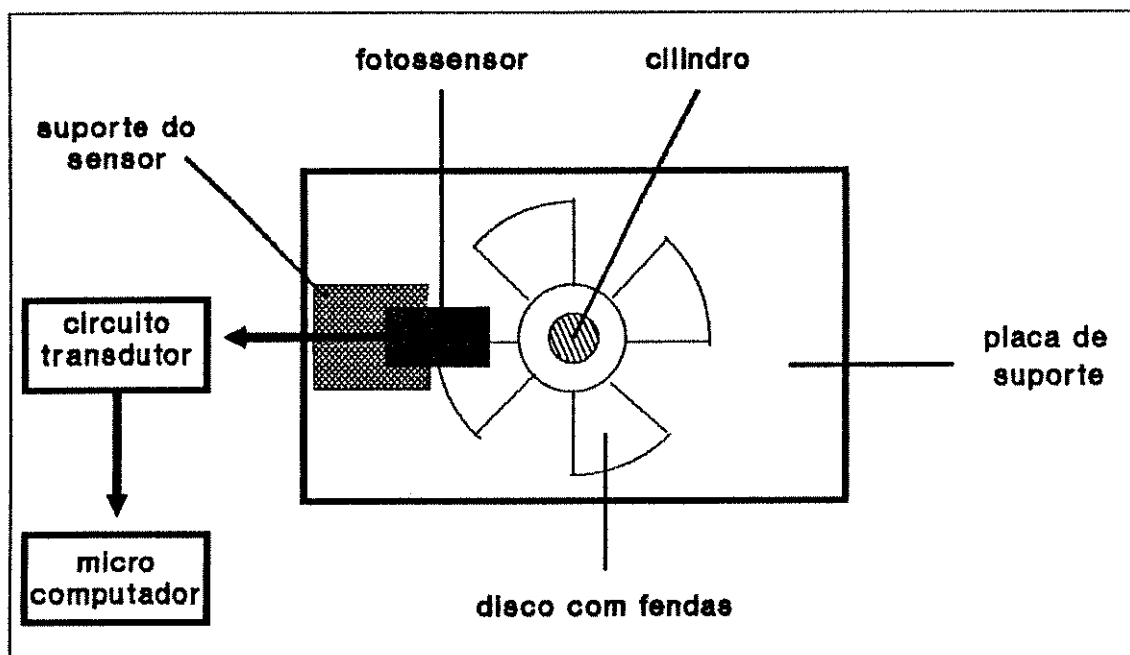


Figura 3 - Diagrama em vista frontal do rotômetro.

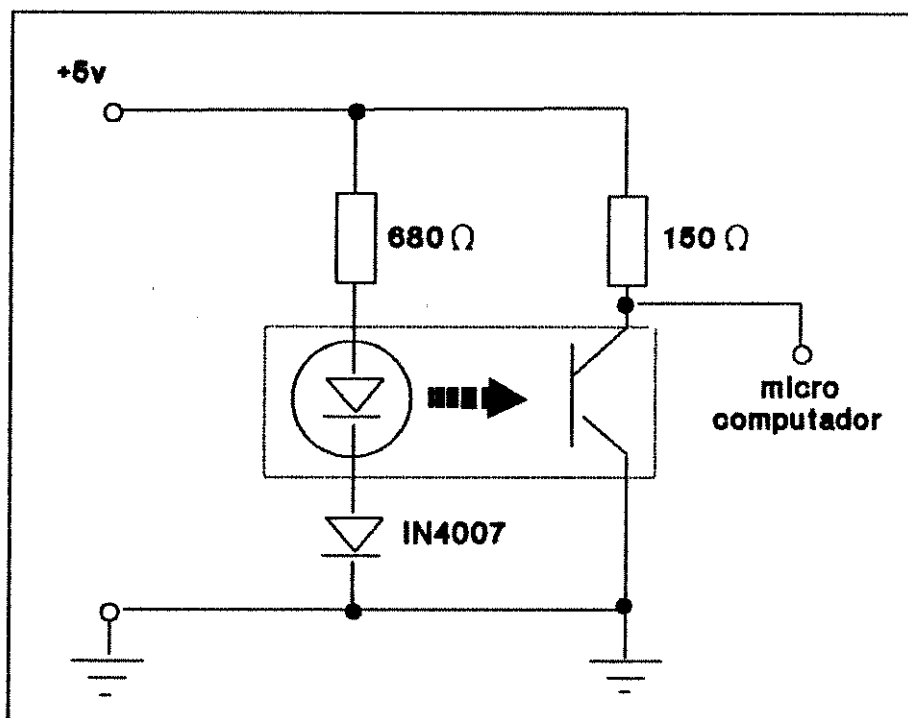


Figura 4 - Esquema do circuito de interface entre o rotômetro e o microcomputador.

b) Software.

O software escrito em MSX-Basic interpretado (apêndice anexo 1), era utilizado na performance de várias funções no controle do experimento, registro e análise dos dados obtidos. O programa permitia:

- A entrada de dados de identificação para cada sessão experimental (data, hora, identificação do animal e do experimento, nome do observador, etc.).

- O controle do início e término da estimulação sonora, por meio da ação do software no sistema de áudio.

- A aquisição e registro dos dados referentes ao movimento circular do animal durante o experimento, obtidos por intermédio do rotômetro.

- A aquisição e registro de eventos comportamentais observados pelo experimentador durante um experimento.

- A análise básica dos dados de corrida circular.

- A análise básica dos eventos comportamentais registrados.

Além disso o software era provido de um módulo especial que permitia a modificação de vários parâmetros operacionais do experimento, como o limiar de detecção das corridas procursivas, a duração do estímulo sonoro e a interrupção do estímulo.

O controle do estímulo sonoro durante o experimento era realizado de maneira bastante simples. A saída do sistema de estimulação sonora era comandada pelo microcomputador por meio do relé de acionamento do cassete, utilizando os comando MOTOR ON ou MOTOR OFF. Desta forma, era proporcionado o

controle automático do início e final da estimulação. Caso desejado, esta operação poderia ser realizada manualmente pelo operador desativando o módulo automático através do teclado.

A atividade motora circular era registrada pelo software de controle baseado no princípio da taco-rotametria. Na taco-rotametria é medida a frequência de sinais disparados por intervalo de tempo.

O sinal proveniente do rotômetro era amplificado por um circuito, a ele acoplado, enviado a interface do joystick e recolhido pelo software nos pinos 8 e 9 através do comando STRIG. Os sinais eram registrados a cada segundo durante o experimento por uma rotina de captura. Este processo resultava em um conjunto seqüencial de números, relacionando tempo e velocidade de corrida (calculado diretamente do número de pulsos por segundo). Estes dados podiam ser apresentados pelo software sob forma de gráfico ou em forma de tabela. Dois tipos de gráficos podiam ser obtidos pelo programa. O primeiro módulo gráfico apresentava o número de pulsos por segundo em função do tempo. O eixo do tempo era dividido em grupamentos de 5 segundos (Figura 5). Este módulo gráfico proporcionava uma idéia geral do comportamento motor do animal durante o tempo total do experimento (geralmente apresentando um ou mais picos de atividade separados por intervalos de latência), bem como a idéia da velocidade de cada corrida. No segundo módulo gráfico cada episódio de corrida circular era plotado separadamente,

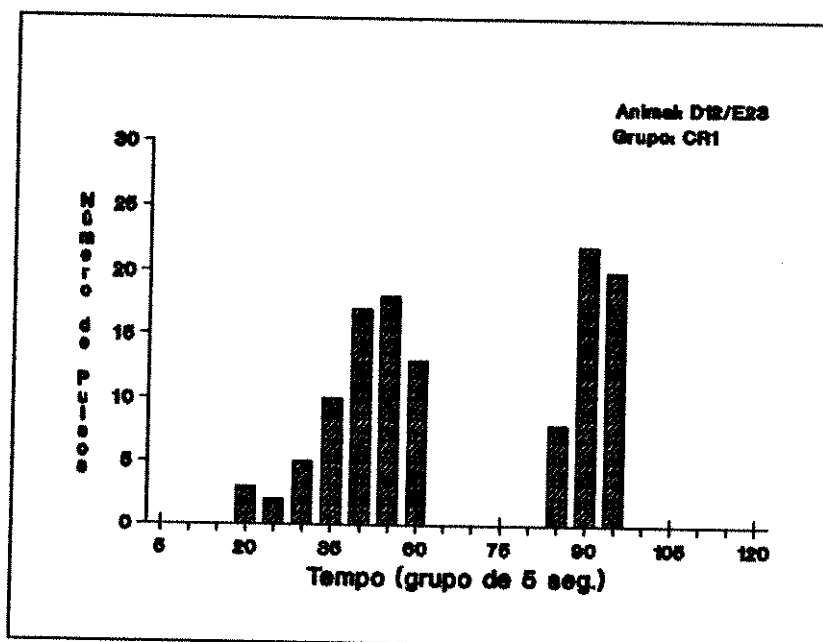


Figura 5 - Apresentação do módulo gráfico geral (tela simulada)

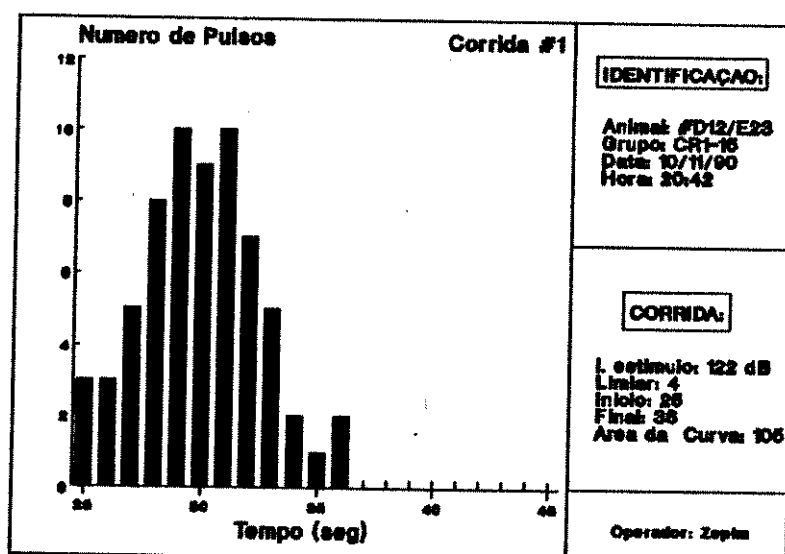


Figura 6 - Apresentação do módulo gráfico detalhado (tela simulada).

em intervalos de 1 segundo, permitindo uma visão detalhada dos picos de atividade motora (Figura 6). O programa também era capaz de identificar a velocidade máxima em cada episódio de corrida, bem como a área total desta curva (uma medida indireta da energia total da corrida). O início e final das corridas eram detectados automaticamente pelo *software* por um algoritmo simples de limiar. Desta forma, o *software* era capaz de calcular a latência, em segundos, de início e fim cada corrida procursiva em relação ao início do experimento, bem como sua duração. A função "tempo", no experimento, era obtida pelo *clock* interno do microcomputador, através do comando TIME.

A fidelidade da medida do número de pulsos digitais registrados através do rotômetro quando da movimentação do animal foi também avaliada, conforme a Figura 7. A figura apresenta na abscissa o número real de pulsos por segundo imposto ao rotômetro e na ordenada o valor registrado no microcomputador. Na faixa de 0 a 10 pulsos por segundo a fidelidade do rotômetro era de 100% comparado a um sistema de registro ideal. Acima deste valor a sensibilidade apresentava um decréscimo significativo. Este fenômeno parece ter sido decorrente da limitação da interface do microcomputador, uma vez que o circuito transdutor havia demonstrado grande eficiência na remessa de pulsos em alta velocidade.

O *software* era também provido de um sistema para registro do comportamento animal durante a estimulação acústica. A cada comportamento era relacionado um código, similar ao etograma desenvolvido por GARCIA-CAIRASCO e SABBATINI

(1983), associado a uma tecla do microcomputador. Os códigos podiam ser registrados pelo observador no teclado do microcomputador tão logo detectados. O programa tinha a capacidade de registrar vários comportamentos simultaneamente,

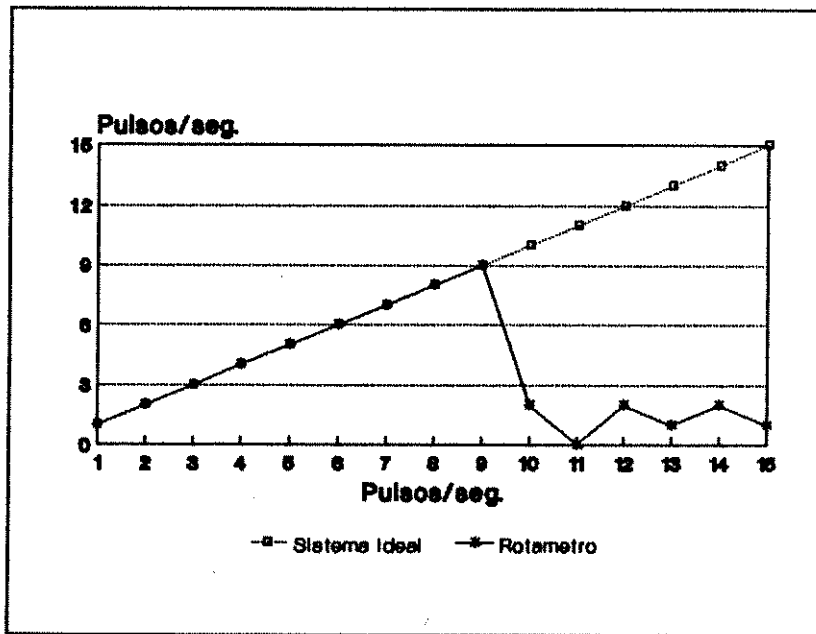


Figura 7 - Relação entre o número de sinais apresentados e o número de sinais registrados pelo sistema de aquisição.

bastando para isto pressionar as teclas correspondentes ao comportamento. A Tabela 3 lista os itens comportamentais e suas respectivas teclas de código. Tanto os comportamentos como os códigos relacionados no programa podiam ser alterados, excluídos ou incluídos até um limite de 20 eventos. Os resultados destes registros podiam ser armazenados ou adquiridos sob forma de tabela. A tabela obtida apresentava a frequência e o tempo total de ocorrência para cada evento comportamental registrado. O

período de ocorrência (início e fim) de cada registro comportamental poderia também ser obtido. Esta parte do programa funcionava como um sistema de registro comportamental computadorizado, operando em tempo contínuo. Os resultados sequenciais da observação podiam ser analisados mais tarde por programas de análise comportamental mais poderosos, como o ETHODATA.

No presente trabalho, entretanto, a inclusão de registros desta natureza não foi considerada. A utilização destes módulo será explorada em futuras investigações.

Tabela 3 Itens comportamentais registrados pelo programa

código do etograma	tecla de código	comportamentos
CCVg	C	convulsões clônicas (generalizadas)
CCVp	D	convulsões clônicas (parciais)
CLS	E	espasmos clônicos
EFL	F	orelhas para baixo
EXC	G	excreção de fezes e urina
FR	H	postura congelada
GN	I	roer
GR	J	auto-limpeza
LI	L	lamber
MT	M	movimentos mastigatórios
PL	N	piloereção
SCR	O	coçar o corpo
SH	P	sacudir a cabeça
SN	Q	cheirar
TC	R	ranger de dentes
TCP	S	taquipnéia
TCV	T	convulsões tônicas
TR	U	tremer
VI	V	movimento de vibrissas
YA	X	bocejar

3.2 Procedimentos

3.2.1 Testes de estimulação audiogênica

Foram realizados dois tipos de experimentos de estimulação sonora.

Experimento (I): O experimento (I) teve por objetivo investigar quantitativamente o efeito da intensidade de estimulação sonora sobre a fase motora procursiva da crise audiogênica. Neste experimento os animais do grupo Exp(1) foram expostos individualmente, na câmara de experimentação, a sessões de estimulação auditiva de intensidades de 101, 110, 118, 122 dB SPL re 0.002 dina/cm², distribuídas aleatoriamente em intervalos de 7 dias entre si. A estimulação sonora se prolongava até um máximo de 120 segundos ou até que o animal apresentasse convulsão tônica e ou clônica. Cada animal era testado em todas as intensidades acústicas por duas vezes.

Experimento (II): O segundo experimento, baseado no procedimento experimental de REID e COLLINS (1986, 1989a, 1989b) em camundongos, teve como finalidade estudar quantitativamente os episódios de corrida circular que antecedem a convulsão audiogênica em diferentes situações experimentais de interrupção do estímulo sonoro ao longo da testagem. Testes com dois períodos de interrupção foram aplicados, um com 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro e outro com 25 segundos. Cinco grupos experimentais foram organizados para cada um dos dois tipos de teste de interrupção: CTRL, PRE, CR1, PEC, CR2, conforme apresentado na Figura 8.

Grupo experimental PRE: No grupo experimental PRE antecedendo ao experimento de estimulação sonora contínua com intensidade de 122 dB era aplicado um estímulo prévio (pré-estímulo) de duração de 5 segundos (tendo em vista que grande número dos animais susceptíveis apresentam convulsões antes dos 10 segundos de estimulação). Em seguida o estímulo era suspenso por um intervalo de tempo de 15 segundos (nos experimentos de 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro) ou 25 segundos (nos experimentos de 25 segundos de interrupção do estímulo), sendo imediatamente precedido de um experimento de estimulação contínua de 120 segundos de duração. O estímulo somente era interrompido ao final dos 120 segundos ou se o animal apresentasse convulsão.

Grupo Experimental CR1: No grupo experimental CR1 o estímulo era interrompido (15 ou 25 seg) assim que fosse identificado o primeiro episódio de corrida. Logo após o período de interrupção, a estimulação acústica era readministrada até a ocorrência de uma crise convulsiva ou até que o período de estimulação alcançasse seu término. A duração da estimulação nos animais que não apresentavam convulsão sempre totalizava 120 segundos.

Grupo experimental PEC: Os animais no grupo experimental PEC eram submetidos a suspensão do estímulo sonoro (15-25 seg) logo após o final do primeiro episódio de corrida. Após a interrupção, o estímulo era retomado até a ocorrência de uma crise convulsiva ou até o término do período de es-

timulação . A duração da estimulação nos animais que não apresentavam convulsão sempre totalizava 120 segundos.

Grupo experimental CR2: No grupo CR2 o estímulo era suspenso (15-25 segundos) assim que fosse identificado o segundo episódio de corrida procursiva. Após a interrupção, o estímulo era retomado até a ocorrência de uma crise convulsiva ou até o término do período de estimulação. A duração da estimulação nos animais que não apresentavam convulsão sempre totalizava 120 segundos.

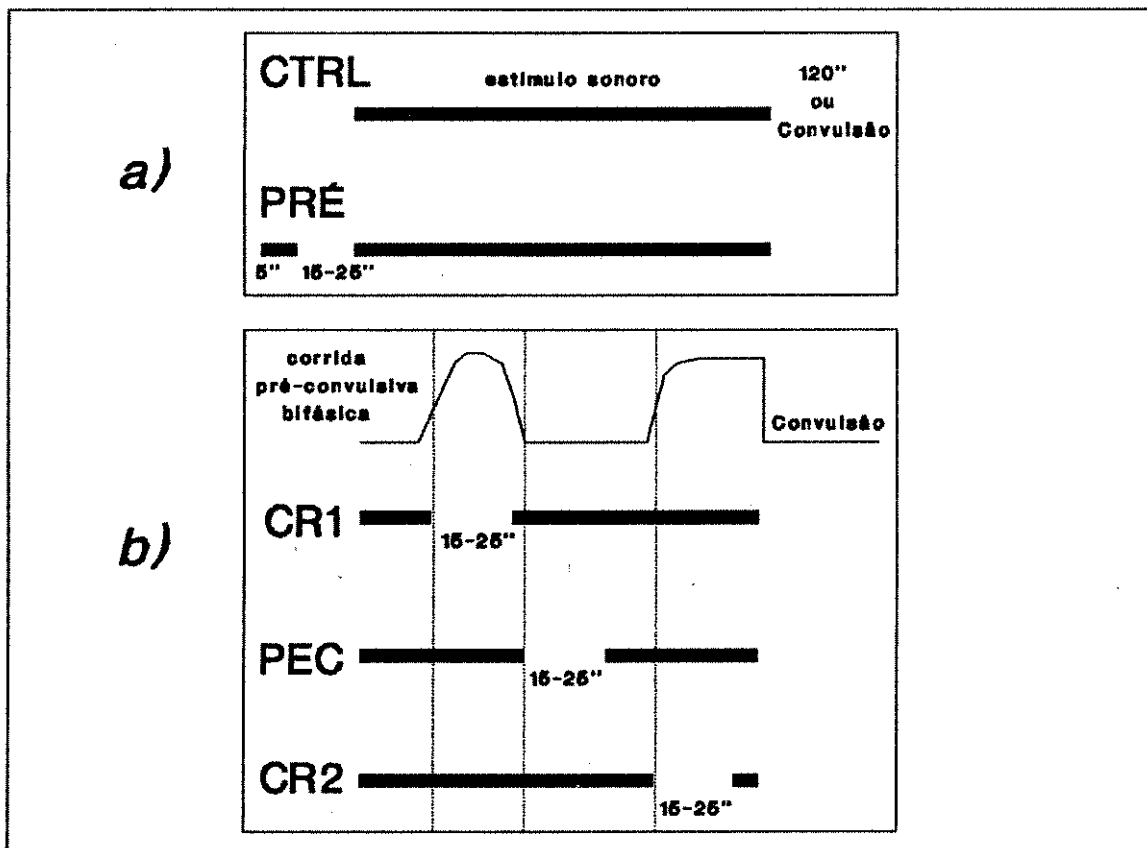


Figura 8 - Grupos experimentais de interrupção do estímulo sonoro: a) grupos CTRL (controle) e PRE (pré- estímulo), de procedimento independente da fase pré-convulsiva; b) grupos CR1 (interrupção do estímulo no início da primeira corrida), PEC (interrupção do estímulo no final da primeira corrida), CR2 (interrupção d estímulo no início da segunda corrida), todos de procedimento dependente da fase pré-convulsiva.

A calibração das intensidades de estímulo descritas em todos os experimentos foram obtidas por intermédio de um decibelímetro digital (Sound Lever Meter, Sympson - Mod.886)

3.2.2 Tratamento dos Dados

Os parâmetros das corridas pré-convulsivas analisados estatisticamente foram:

- A latência, em segundos, para o início e término de cada corrida em relação ao início da estimulação sonora.
- A latência entre a ocorrência de duas corridas em ataques bifásicos (correspondente ao período entre o término da primeira corrida e início da segunda corrida).
- A duração em segundos das corridas (correspondente ao período entre o início e o término de cada episódio de corrida).
- A velocidade das corridas (em pulsos, registrados pelo rotômetro, por segundo).

Como a distribuição da maioria dos parâmetros considerados nos animais testados não se adaptou ao modelo paramétrico, segundo o teste "Goodness of Fit" (mesmo após a utilização de técnicas de normalização), adotaram-se métodos estatísticos não-paramétricos para a sua análise. As diferenças efetivas das variáveis entre os testes aplicados, tanto no experimento (I), como no experimento (II), foram avaliadas utilizando-se o teste de Kruskall-Wallis, bem como o teste de comparações múltiplas. Diversas técnicas de múltiplas comparações em testes estatísticos não-paramétricos são disponíveis (MILLER, 1981; HOCHBERG e TAMHANE,

1987)). Entretanto, segundo os autores, a eficiência destes métodos pode variar em determinadas situações, como em amostras de tamanhos diferentes. Desta forma, com o objetivo de minimizar o erro da análise, optou-se pela múltipla comparação dos grupos, cujo teste de Kruskall-Wallis se mostraram significativos, por múltiplos testes de Wilcoxon-Mann-Witney nas diferentes combinações possíveis, conforme sugerido por (LEHMANN e D'ABRERA, 1975).

Para as comparações de frequência entre diferentes características foi utilizado o teste de qui-quadrado.

A análise estatística descritiva dos dados, os teste não-paramétricos e de qui-quadrado foram todos realizados com o auxílio de um microcomputador IBM-PC XT, utilizando o pacote estatístico MICROSTAT 4.1 (Ecosoft. inc., EUA).

4. RESULTADOS

4.1. ANÁLISE DO EFEITO DA INTENSIDADE DE ESTIMULAÇÃO SONORA SOBRE A FASE MOTORA PRÉ-CONVULSIVA DA CRISE AUDIOGÊNICA

4.1.1 Distribuição dos tipos de corrida audiogênica em relação à intensidade do estímulo sonoro aplicado

A Tabela 4 e a Figura 9 apresentam a distribuição dos tipos de corrida audiogênica encontradas nos experimentos utilizando diversas intensidades de estimulação sonora. São apresentadas as frequências absolutas e relativas de cada tipo de corrida procursiva em relação à intensidade sonora em que foi observada. Dos animais da amostra 1 (utilizados no experimento I), 93 testes obtiveram resultado positivo para a ocorrência de fase pré-convulsiva. Conforme é observado na figura 9, os ataques não terminados em convulsão (C1 e C1C2), apresentaram um máximo de frequência nos experimentos com intensidade de estimulação de 101 dB. Nas demais intensidades de estimulação sonora (110, 188 e 122dB), a frequência destes ataques se apresentou bastante reduzida. As crises bifásicas terminadas em convulsão (C1C3), apresentaram em experimentos de intensidade de estimulação de 101 dB, uma frequência relativamente baixa em relação aos demais experimentos de intensidades sonoras. Nos experimentos de 110, 118 e 122 dB a frequência destes ataques passou a apresentar um comportamento decrescente. Por outro lado, nos ataques monofásicos convulsivos (C3), foi observada uma as-

censão da freqüência em relação à elevação da intensidade do estímulo sonoro aplicado.

Tabela 4 - Distribuição de freqüência dos diversos tipos de crises observadas em relação à intensidade do estímulo sonoro, mostrando no rodapé da tabela, o resultado do teste de qui-quadrado para estes dados.

INTENS. SONORA	C1		C1C2		C1C3		C3		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	N
101 dB	2	12.5	4	25.0	8	50.0	2	12.5	16
111 dB	1	4.0	1	4.0	17	71.0	5	21.0	24
118 dB	2	7.1	1	3.6	17	60.7	8	28.6	28
122 dB	1	4.0	1	4.0	14	56.0	9	36.0	25
Total	6	6.0	7	7.0	56	60.0	24	26.0	93

$\chi^2_{9}=12.848$: $P \leq 0.05$

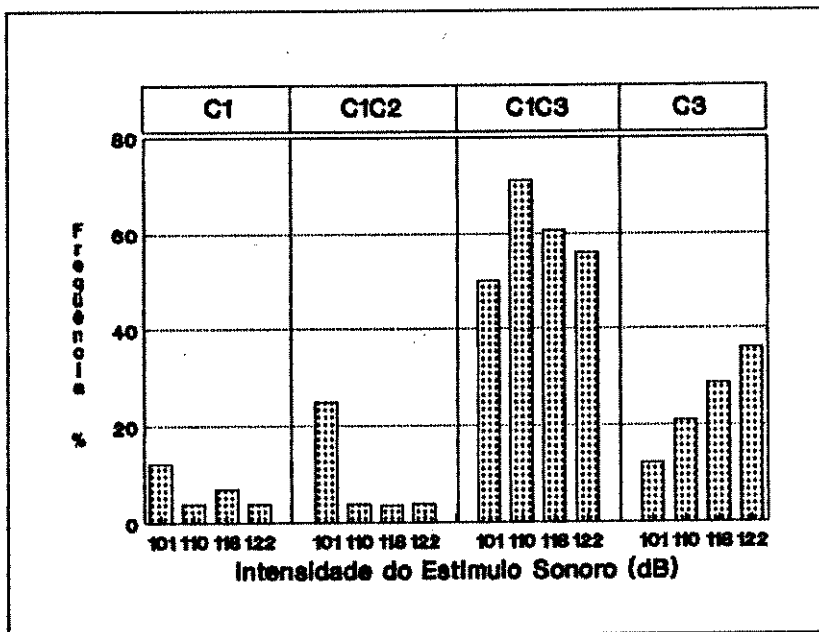


Figura 9 - Freqüência dos ataques audiogênicos C1, C1C2, C3, C1C3 nos experimentos estimulação sonora com intensidade de 101, 110, 118 e 122 dB.

4.1.2. Efeito da intensidade sonora sobre a latência de início e final das corridas procursivas

A Figura 10 apresenta a latência média para o aparecimento das corridas procursivas dos ataques monofásicos (C3) e bifásicos (C1C3) em animais submetidos a estimulação sonora de 101, 110, 118, 122 dB. Conforme é observado no gráfico, os ataques C3 não apresentaram variações significativas na latência de surgimento da fase procursiva, não diferindo da primeiro episódio de corrida dos ataques bifásicos (cabecalho da figura). Entretanto, os ataques bifásicos apresentaram nos experimentos realizados com estimulação sonora de 101 dB, uma latência média elevada, tanto na primeira como na segunda corrida procursiva (33.7 ± 25.1 e 63.7 ± 25.2). O medida em que a intensidade sonora foi elevada, a latência do aparecimento destas corridas foi reduzida, atingindo nos testes com estimulação de 122 dB a latência média de 11.6 ± 5.9 na primeira corrida e 39.0 ± 9.6 na segunda corrida.

A Figura 11 mostra a latência média em segundos para o término da primeira corrida procursiva nas diferentes intensidades sonoras testadas. A exemplo das latências de início dos ataques monofásicos as latências médias do término da atividade motora procursiva dos ataques bifásicos também não apresentam grande variação em seus valores em relação ao aumento da intensidade do estímulo sonoro. A latência média para o término das corridas pré-convulsivas dos ataques bifásicos assemelha-se também ao apresentado na latência de aparecimento de suas corridas, conforme é representado na

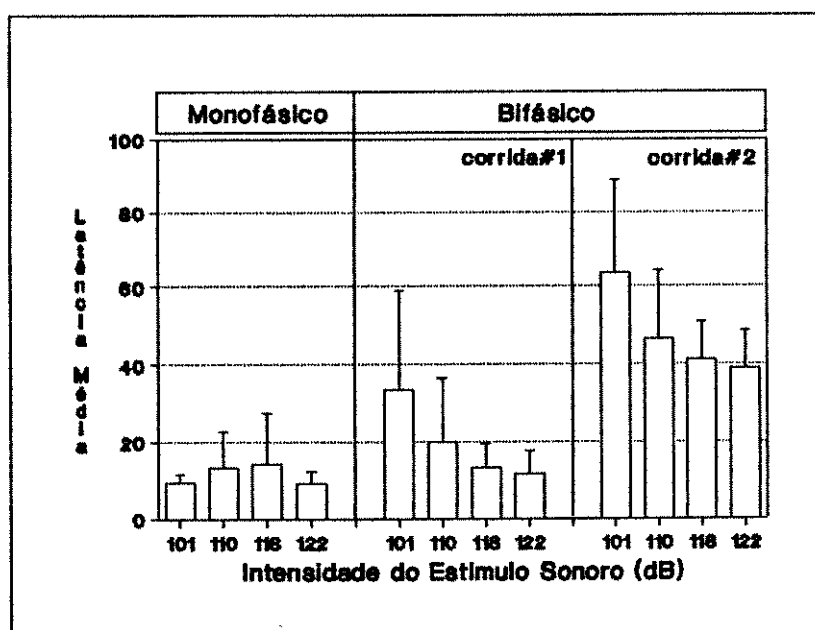


Figura 10 - Latência média em segundos do aparecimento das corridas procursivas nos ataques monofásicos e bifásicos para experimentos realizados com intensidades de estimulação sonora de 101, 110, 118 e 122 dB (Teste U: 101=1.157; 110=0.823; 118=0.903; 122=1.323).

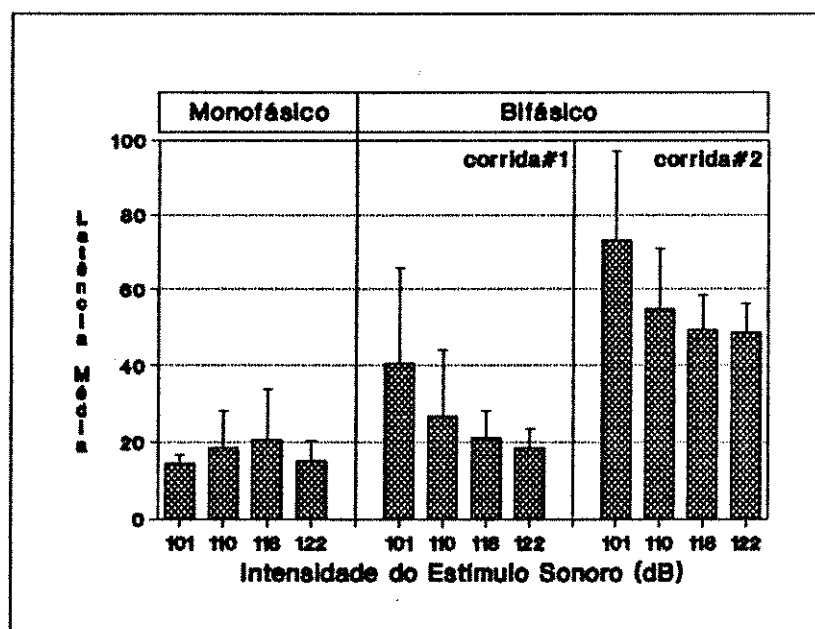


Figura 11 - Latência média em segundos do término das corridas procursivas nos ataques monofásicos e bifásicos para experimentos realizados com intensidades de estimulação sonora de 101, 110, 118 e 122 dB (Teste U: 101=2.089; 110=1.1567; 118=0.990; 122=1.575).

figura anterior. Tanto a primeira corrida destes ataques, quanto na segunda, apresentam um decréscimo de seu valor, associado a elevação da intensidade sonora. O valor médio máximo para a latência do término da primeira e da segunda corrida bifásica foi observado na intensidade de estimulação de 101 dB (40.5 ± 25.2 e 73.1 ± 23.9), e o valor mínimo em 122 dB, (18.5 ± 4.9 ; 48.3 ± 7.6). As corridas monofásicas e a primeira corrida dos ataques bifásicos revelam diferença significativa na latência de término, somente nos experimentos com intensidade de estimulação de 101 dB, conforme cabeçalho da figura.

A latência média em segundos entre o final da primeira corrida procursiva e o início da segunda (Latência Entre Corridas - LEC) em ataques do tipo bifásico é apresentado na Figura 12. Estes valores não diferiram significativamente entre os experimentos com intensidade de estimulação de 101, 110, 118 e 122 dB ($H=1.066$; $P \leq 0.05$)

Dado a não adaptação dos valores ao modelo paramétrico, a diferença entre os valores médios da latência para o início e final das corridas mono e bifásicas foi avaliada pela aplicação do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Nas Tabelas 5 e 6 são demonstrados os resultados obtidos pelo teste para as latências de início e término das primeiras e segundas corridas nos experimentos com intensidade de estimulação sonora de 101, 110, 118, 122dB . O teste de Kruskal-Wallis na Tabela 5 apresentou valor de (H) significativo nos ataques bifásicos para ambos

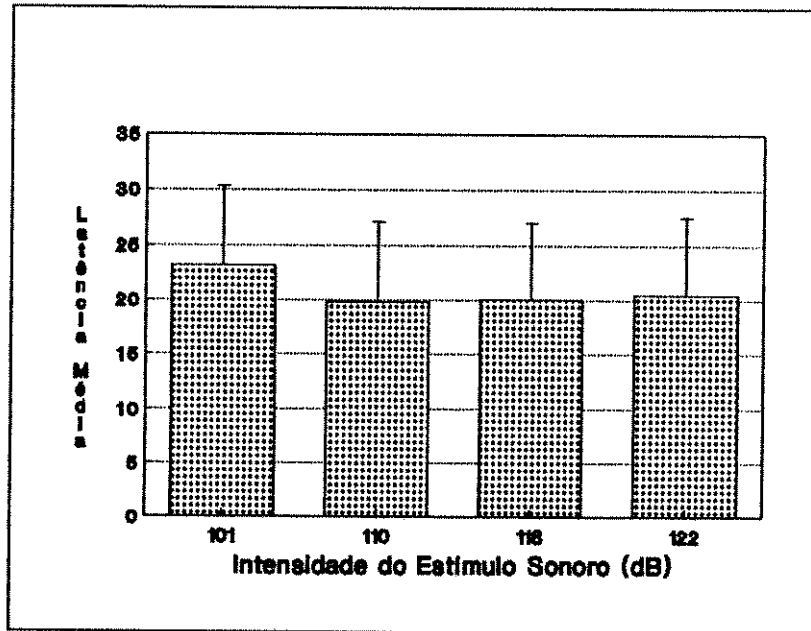


Figura 12 - Latência média em segundos do término da primeira corrida procursiva e início da segunda nos ataques bifásicos (C1C3) para experimentos realizados com intensidades de estimulação sonora de 101, 110, 118 e 122dB.

as variáveis tanto na primeira ($H=8.581$) como na segunda corrida ($H=8.060$), indicando heterogeneidade das amostras constituintes. Por outro lado, o início da atividade procursiva nos ataques monofásicos não se mostrou significativo ($H=0.536$).

Tabela 5 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis entre os experimentos de intensidades sonoras para as latências de início das corridas procursivas nos ataques do tipo monofásico e bifásico.

Tipo de ataque	(H)	
	Corrida #1	Corrida #2
Monofásico	0.536	-----
Bifásico	8.581*	8.060*

Significância: * $P < 0.05$; GL=3

A exemplo da tabela anterior os resultados do teste de Kruskall-Wallis para o término da primeira e da segunda corrida procursiva (Tabela 6) apresentaram valores estatisticamente significativo somente para ataques do tipo bifásico. A significância para a variável início ($H=7.200$), só é obtida para $P \geq 0.10$, muito embora se aproxime muito da significância para $P < 0.05$. O valor de (H) para o término da primeira e da segunda corrida foi estatisticamente significativo ($H=9.094$).

Tabela 6 - Resultado do teste de Kruskall-Wallis entre os experimentos de intensidades sonoras para as latências de término das corridas procursivas nos ataques do tipo monofásico e bifásico.

Tipo de ataque	(H)	
	Corrida #1	Corrida #2
Monofásico	0.469	-----
Bifásico	7.200**	9.094*

Significância: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0.10$: GL=3

Dado a significância estatística dos valores entre o início e término das corridas procursivas para os ataques bifásicos, foi aplicado o teste de comparação múltipla. Tendo em vista os problemas já apresentados na discussão do método estatístico (Seção 3.2.2), foram aplicadas comparações múltiplas entre as os experimentos para a variável em questão por meio de múltiplos testes U (Wilcoxon-Mann-Witney). Este procedimento teve por finalidade elucidar a ori-

gem dos valores significativos de H. As Tabelas 7 a 10 apresentam os testes de comparação múltipla das amostras de intensidade de 101, 110, 118, 122dB para o início e término da primeira e segunda corrida. Os grupos experimentais aparecem listados em ordem decrescente de acordo com a média dos valores de latência.

Tabelas 7 - Comparações múltiplas entre as intensidades sonoras testadas em relação à latência de início da primeira corrida procursiva dos ataques do tipo bifásicos.

Intensidade sonora(dB)	Média dos grupos	Valor de U			
		101	110	118	122
101	33.7	---			
110	19.8	1.43	---		
118	13.2	2.36*	1.00	---	
122	11.6	2.53*	1.53	0.62	---

Significância: * $P \leq 0.05$: --- = não significativo

Tabela 8 - Comparações múltiplas entre as intensidades sonoras testadas em relação à latência do término da primeira corrida procursiva dos ataques do tipo bifásicos.

Intensidade sonora(dB)	Média dos grupos	Valor de U			
		101	110	118	122
101	40.5	---			
110	26.8	1.40	---		
118	21.2	1.81	0.29	---	
122	18.5	2.46*	1.65	1.29	---

Significância: * $P \leq 0.05$:

Na Tabela 7 foi identificada diferença significativa para o início da atividade motora procursiva da primeira corrida entre os experimentos com intensidade de estimulação

sonora de 101 e 122 dB, e 101 e 118 dB ; as demais comparações não foram significativas. Na Tabela 8 a comparação do final da primeira corrida procursiva bifásica revelou diferença significativa para $P \leq 0.05$ somente entre os experimentos de 101 e 122 dB.

Tabela 9 - Comparações múltiplas entre as intensidades sonoras testadas em relação à latência de início da segunda corrida procursiva dos ataques do tipo bifásicos.

Intensidade sonora(dB)	Média dos grupos	Valor de U			
		101	110	118	122
101	63.7	---			
110	46.6	1.78	---		
118	41.3	2.36*	0.91	---	
122	39.0	2.40*	1.37	0.70	---

Significância: * $P \leq 0.05$:

Tabela 10 - Comparações múltiplas entre as intensidades sonoras testadas em relação à latência do término segunda corrida procursiva ataques do tipo bifásicos.

Intensidade sonora(dB)	Média dos grupos	Valor de U			
		101	110	118	122
101	73.1	---			
110	54.5	2.01*	---		
118	49.1	2.71*	0.84	---	
122	48.3	2.66*	1.01	0.26	---

Significância: * $P \leq 0.10$:

Na segunda corrida foi identificada diferença estatisticamente significativa nos valores de início da atividade motora procursiva entre os experimentos de intensidade de estimulação de 101-122 dB e 101-118 dB (Tabela 9). As demais comparações não foram significativas. Os resultados das comparações múltiplas para o término da segunda corrida (Tabela 10) apresentaram significância nas comparações entre

o experimento de 101 com todos os demais. Estes dados sugerem a proximidade dos valores entre os experimentos com estimulação de 110, 118 e 122 dB que parecem diferir dos obtidos no experimento com estimulação de 101 dB.

4.1.3. Efeito da intensidade sonora sobre a duração e velocidade das corridas

A duração média das corridas monofásica e bifásicas nas intensidades de estimulação sonora de 101, 110, 118 e 122 dB é apresentada na Figura 13. O gráfico indica homogeneidade entre a duração de cada tipo de ataque nos diferentes intensidades de estimulação sonora aplicadas. Muito embora a duração média dos três tipos de corridas pareça diferir, foi constatada diferença significativa somente entre os tipos de corridas no experimento com 101dB de estimulação, onde a duração do segundo episódio de corrida dos ataques (C1C3) difere dos demais ($H_{101}=3.143$).

A velocidade média das corridas monofásicas e dos dois episódios de corridas bifásicas é apresentado na Figura 14 para os experimentos de estimulação com intensidades de 101, 110, 118 e 122 dB. Comparando a velocidade das corridas monofásicas e das duas corridas dos ataques bifásicos foi possível identificar diferença significativa por meio do teste de Kruskal-Wallis entre estas três corridas para os experimentos de estimulação sonora de 101 e 122 dB ($H_{101}=7.607$; $H_{122}=6.132$; $P \leq 0.05$). Nestes dois experimentos as corridas seguidas de convulsão apresentaram um valor para

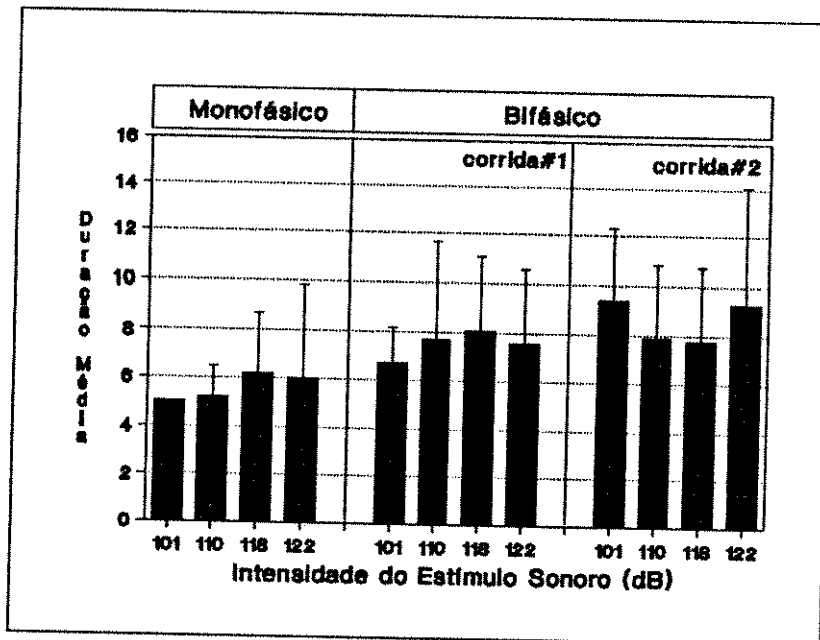


Figura 13 - Duração média, em segundos, das corridas procursivas nos ataques monofásicos e bifásicos para experimentos realizados com intensidades de estimulação sonora de 101, 110, 118 e 122 dB.

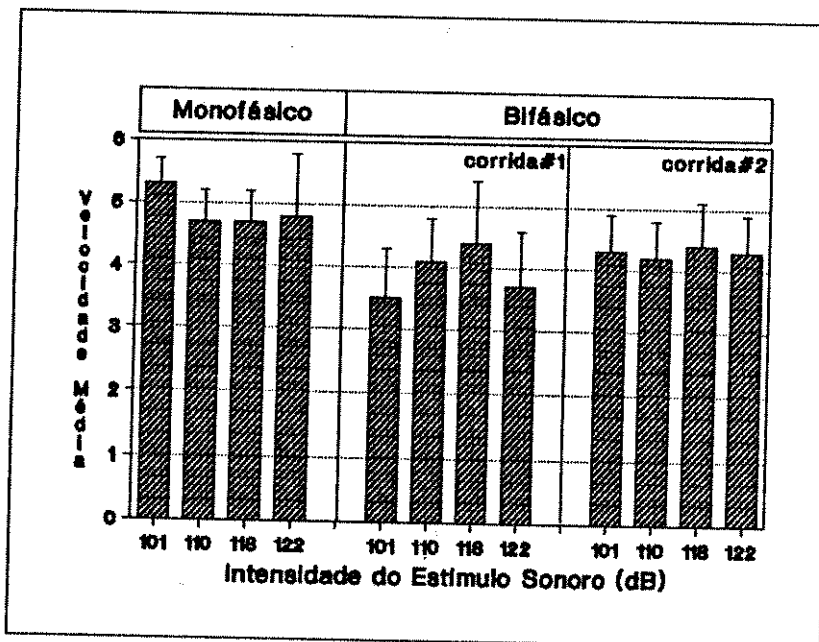


Figura 14 - Velocidade média, em pulsos por segundo, das corridas procursivas nos ataques monofásicos e bifásicos para experimentos realizados com intensidades de estimulação sonora de 101, 110, 118 e 122 dB.

a velocidade semelhante, que diferia daqueles observados na primeira das corridas dos ataques bifásicos.

A diferença intergrupos de estimulação para a duração e velocidade das corridas foi analisada por meio do teste de Kruskall-Wallis, de acordo com as Tabelas 11 e 12. O período de duração das corridas nos ataques monofásicos e do primeiro episódio de corrida das crises bifásicas não diferiram significativamente, assim como segundo episódio de corrida dos ataques bifásicos (Tabela 11).

Tabela 11 - Resultado do teste de Kruskall-Wallis entre os experimentos de intensidades sonoras para a duração das corridas procursivas nos ataques do tipo monofásico e bifásico.

Tipo de ataque	(H)	
	Corrida #1	Corrida #2
Monofásico	0.612ns	-----
Bifásico	0.479ns	1.675ns

Significância: ns=não significativo : GL=3

Tabela 12 - Resultado do teste de Kruskall-Wallis entre os experimentos de intensidades sonoras para a velocidade das corridas procursivas nos ataques do tipo monofásico e bifásico.

Tipo de ataque	(H)	
	Corrida #1	Corrida #2
Monofásico	1.616ns	-----
Bifásico	9.724*	0.711ns

Significância: * $P \leq 0,05$; ns=não significativo : GL=3

Os grupos que diferiram significativamente segundo o teste de Kruskal-Wallis com relação à velocidade foram analisada por meio do teste de comparação múltipla (Tabela 13). Novamente as intensidades de estimulação testadas aparecem listadas em ordem decrescente de acordo com a média de velocidade obtidos em cada grupo. As comparações múltiplas para ataques do tipo bifásico apresentaram resultado semelhante aos obtidos nos ataques monofásicos (Tabela 13). As demais comparações não foram significativas.

Tabela 13 - Comparações múltiplas entre as intensidades sonoras testadas em relação à velocidade da corrida primeira procursiva dos ataques do tipo bifásicos.

Intensidade sonora(dB)	Média dos grupos	Valor de U			
		118	110	122	101
118	4.4	---			
110	4.1	1.05	---		
122	3.7	2.26*	1.27	---	
101	3.5	2.80*	1.94	0.27	---

Significância: * $P < 0.05$:

4.2. EFEITO DA INTERRUPÇÃO DO ESTÍMULO SONORO SOBRE A FASE MOTORA PRÉ-CONVULSIVA DA EPILEPSIA AUDIOGÊNICA

4.2.1. Distribuição dos tipos de corridas pré-convulsivas em relação aos grupos experimentais de interrupção do estímulo sonoro

Os ataques audiogênicos obtidos nos cinco grupos experimentais de interrupção do estímulo sonoro (PRE, CR1, PEC, CR2 e CTRL) são analisados na Figura 15 quanto à ocorrência

de crises seguidas ou não por convulsão. Estes valores são apresentados para os grupos experimentais: (a) experimento de interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro ao animal e (b) experimento de interrupção de 25 segundos. A frequência obtida em cada grupo foi comparada com seu controle. Um asterisco foi utilizado para assinalar a significância da diferença entre estes grupos. De maneira geral, ocorreu uma redução na proporção dos ataques terminados em convulsão em relação ao grupo controle nos grupos CR1 e PEC em ambos os experimentos de interrupção do estímulo sonoro (Figura 15). Esta redução, entretanto, só pode ser considerada significativa para $P > 0.05$ nos grupos CR1-25 (referente ao experimento-25) e PEC-15 (referente ao experimento-15) (PEC-15=2.85; CR1-25=3.75). Os grupos PRE e CR2 não diferiram do controle em nenhum dos experimentos realizados. A análise entre grupos de um mesmo tipo nos dois experimentos só revelou diferença entre o grupo CR2-15 e CR2-25 para $P \geq 0.20$ ($\chi^2_1=2.040$).

A Tabela 14 apresenta as frequências absolutas e relativas dos ataques terminados em convulsão observados nos 5 grupos dos experimentos interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro. Três tipos de ataques procursivos terminados em convulsão foram observados: ataques monofásicos, bifásicos e trifásicos. Os trifásicos, foram registrados somente nos grupos CR1 e PEC. A comparação de grupos de igual procedimento nos experimentos 15 e 25 seg. , conforme é ilustrado no rodapé da tabela, não demonstrou diferença significativa, com exceção do grupo PEC. Este fato parece

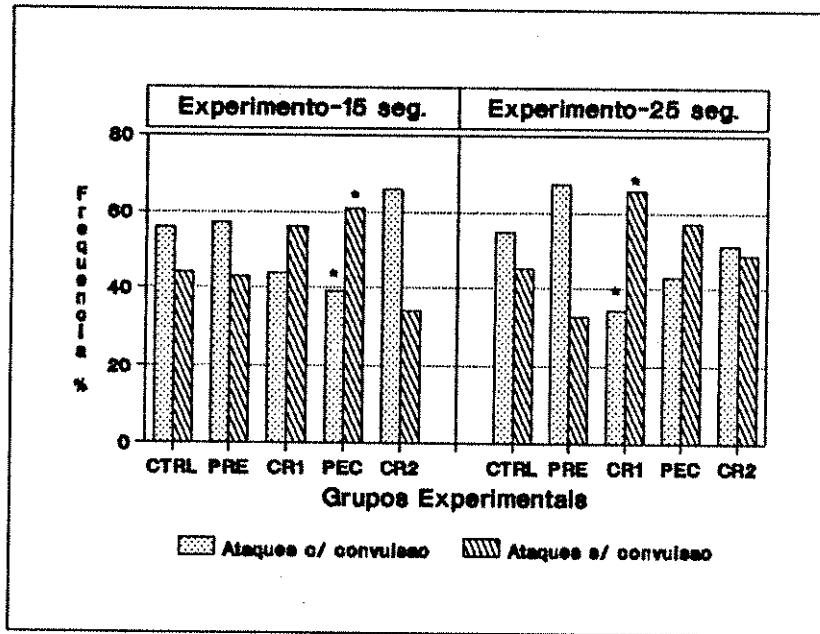


Figura 15 - Frequência de ataques com e sem convulsão nos experimentos com 15 e 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P=0.05$).

Tabela 14 - Frequência de ataques terminados em convulsão nos grupos experimentais.

Grupos experimentais	Tipos de ataques						Total
	C3		C1C3		2C1C3		
	N	%	N	%	N	%	
PRE(15)	10	35.7	18	64.3	0	0.0	28
PRE(25)	11	36.7	19	63.3	0	0.0	30
CR1(15)	5	23.8	16	76.2	0	0.0	21
CR1(25)	5	35.7	8	57.1	1	7.1	14
PEC(15)	7	29.2	12	50.0	5	20.8	24
PEC(25)	13	72.2	5	27.8	0	0.0	18
CR2(15)	19	59.4	13	40.6	0	0.0	32
CR2(25)	12	60.0	8	40.0	0	0.0	20
CTRL(15)	12	42.9	16	57.1	0	0.0	28
CTRL(25)	10	35.7	18	64.3	0	0.0	28
Total	104	42.8	133	54.7	6	2.5	243

$X^2_1(C3, C1C3): PRE=0.00; CR1=0.830; PEC=2.930; CR2=0.009;$
 $CTRL=0.144$

ter sido provocado pela redução da freqüência das crises C1C3, já que os ataques C3 não sofreram nenhum efeito no grupo onde a interrupção se deu após a primeira corrida pré-convulsiva.

A freqüência das corridas pré-convulsivas não terminadas em convulsão é apresentado na Tabela 15. Novamente, foram identificados três tipos de ataques: monofásicos, bifásicos e trifásicos. Os trifásicos sem convulsão a exemplo dos terminados em convulsão foram observados somente nos grupo CR1-25 e PEC-15. As comparações, por meio do teste de qui-quadrado, dos grupos de igual procedimento dos experimentos 15 e 25 são também apresentados no rodapé da tabela. A única análise que resultou em significância foi a realizada entre os grupos PRE ($X^2_1=3.558$).

Tabela 15 - Freqüência de ataques não terminados em convulsão nos grupos experimentais.

Grupos experimentais	Tipos de ataques						Total
	C1		C1C2		2C1C2		
	N	%	N	%	N	%	
PRE(15)	14	66.7	7	33.3	0	0.0	21
PRE(25)	6	50.0	6	50.0	0	0.0	12
CR1(15)	19	73.1	7	26.9	0	0.0	26
CR1(25)	18	75.0	3	12.5	3	12.5	24
PEC(15)	26	83.9	4	12.9	1	3.2	31
PEC(25)	24	96.0	1	4.0	0	0.0	25
CR2(15)	8	61.5	5	38.5	0	0.0	13
CR2(25)	17	94.4	1	5.6	0	0.0	18
CTRL(15)	14	66.7	7	33.3	0	0.0	21
CTRL(25)	10	45.4	12	54.6	0	0.0	22
Total	156	73.2	53	24.9	4	1.9	213

$X^2_1(C1,C1C2):PRE=3.558; CR1=0.003; PEC=0.973; CR2=0.009;$
CTRL=0.144

A Figura 16 e 17 apresentam os resultados gerais de frequência de ataques obtidos nos experimentos com interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro. Os valores de cada grupo experimental são comparados a seu controle. Os grupos experimentais CR1, PEC e CR2 parecem ter exercido uma forte influência no curso dos ataques (ao menos em EXP-25). Estes, parecem ter contribuído para a supressão das fases que precedem a interrupção do estímulo. Isto pode ser evidenciado por uma elevação significativa na frequência de ataques monofásicos do tipo C1 no experimento de interrupção de 25 segundos do estímulos sonoro, seguida de uma redução na frequência de ataques C1C3 e C1C2, apresentando, porém, significância somente nos grupos PEC-25 para C1C3 ($Z_{pec}=2.362$) e PEC-25 e CR2-25 para C1C2 ($Z_{pec}=2.759$; $Z_{cr2}=2.814$) em relação à seus respectivos controles. Nos ataques C3, embora os dados indiquem que somente a interrupção do estímulo sonoro aplicado no grupo CR1 tenha afetado o curso normal da corrida, não foram observadas diferenças significativas entre seus grupos experimentais e o controle para $P \leq 0.05$.

4.2.2. Efeito interrupção do estímulo sonoro sobre o início e término da atividade motora procursiva

As Figuras 18 e 19 ilustram o valor médio em segundos do início da primeira corrida procursiva observada nos ataques audiogênicos dos tipos monofásicos e bifásicos nos

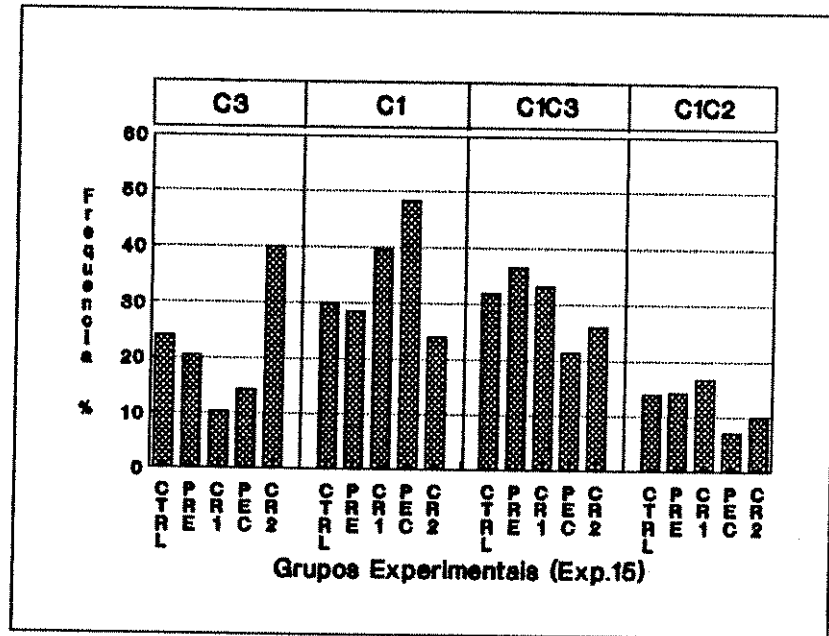


Figura 16 - Frequência de ataques C3, C1, C1C3 e C1C2 nos experimentos com 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro.

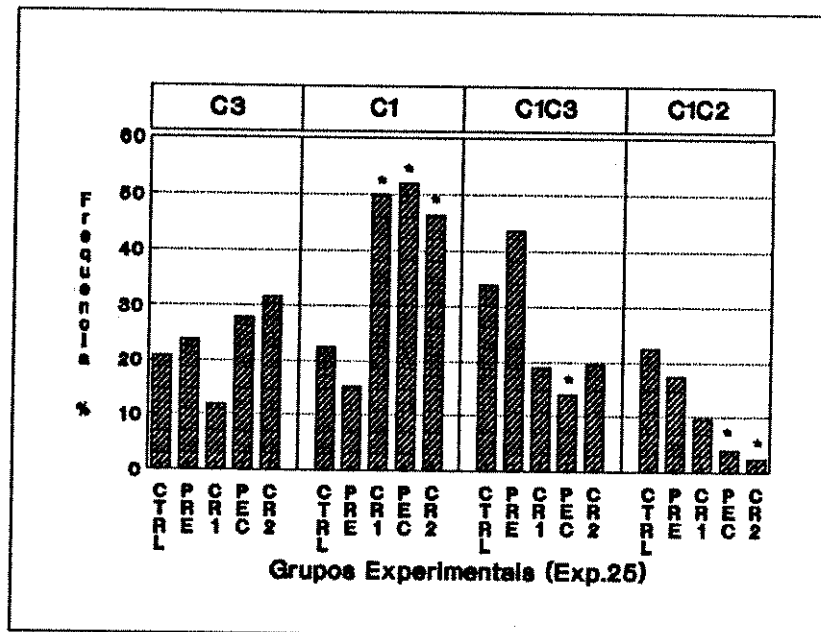


Figura 17 - Frequência de ataques C3, C1, C1C3 e C1C2 nos experimentos com 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

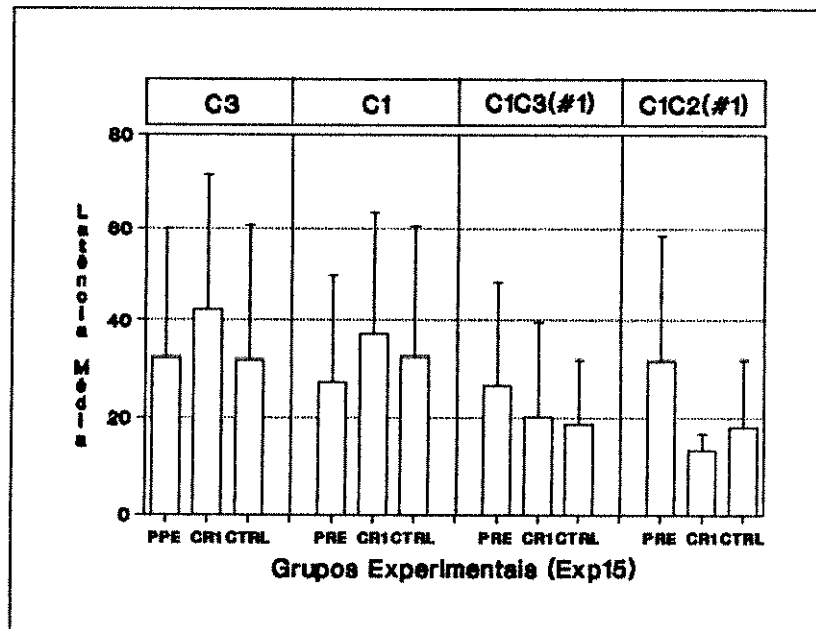


Figura 18 - Valor médio em segundos e desvio padrão da latência para o início da corrida procursiva dos ataques monofásicos C3 e C1 e da primeira corrida dos ataques audiogênicos bifásicos C1C3 e C1C2, nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL com interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro.

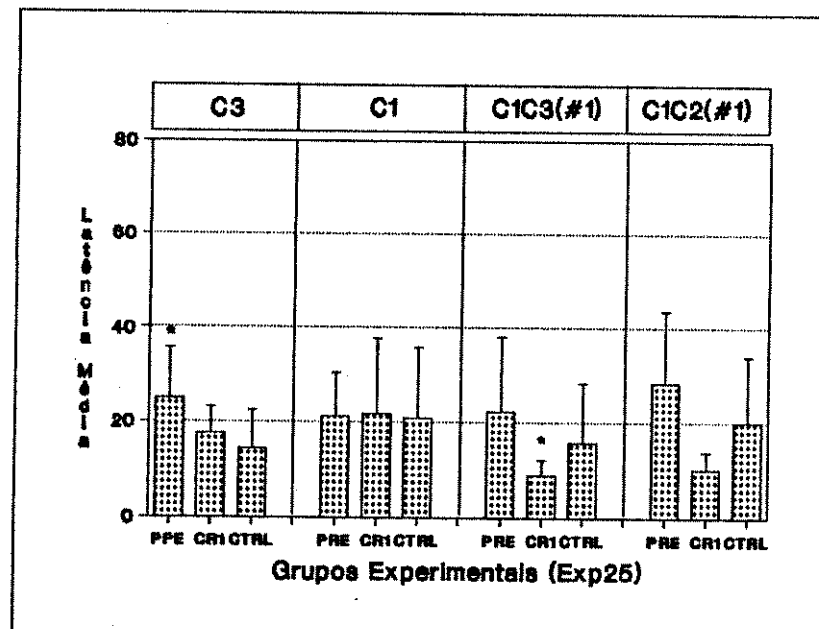


Figura 19 - Valor médio em segundos e desvio padrão da latência para o início da corrida procursiva dos ataques monofásicos C3 e C1 e da primeira corrida dos ataques bifásicos C1C3 e C1C2, nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL com interrupção de 25 segundos do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

experimentos de interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro. A análise entre os grupos experimentais e seu controle em cada tipo de ataque não revelou diferença nos valores de latência para o início da primeira corrida no experimento com interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro. Nos experimentos com interrupção de 25 segundos do estímulo sonoro, foram encontradas diferenças significativas entre a latência de aparecimento da corrida procursiva dos grupos CTRL-25 e PRE-25 nos ataques C3, e na primeira das corridas bifásicas entre os grupos CTRL-25 e CR1-25 nos ataques C1C3.

Com a finalidade de verificar diferenças entre a latência de aparecimento da primeira corrida dos ataques procursivos do tipo C3, C1, C1C3, C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL, foi aplicado o teste de análise de variância não paramétrico de Kruskal-Wallis. O teste revelou diferença significativa somente entre o início da primeira corrida nos grupo CR1 e CTRL (Tabela 16).

Tabela 16 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis entre os tipos de ataque para início da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos.

Grupo Experimental	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
PRE	0.857	NS	0.628	NS
CR1	13.489	*	13.941	*
CTRL	9.819	*	8.092	*

(Sg)Significância: (*) para $P \leq 0.05$: GL=3

Os diferentes ataques foram comparados, em pares, a fim de determinar os ataques que diferiam estatisticamente dentro do grupos CR1 e CTRL para os experimentos de interrupção

de 15 e 25 segundos (Tabelas 17, 18, 19, 20). Na Tabela 17, relativa aos experimentos com interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro, dois grupos foram observados: a) um contendo os ataques monofásicos; b) e outro contendo os ataques bifásicos. O mesmo resultado foi observado na Tabela 18 para experimentos de interrupção de 25 segundos do estímulo sonoro.

Tabela 17 - Comparação múltipla para a latência do início da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CR1 dos experimentos de interrupção de 15 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C3	C1	C1C3	C1C2
C3	42.4	--			
C1	37.0	0.92	--		
C1C3	20.1	2.19*	2.80*	--	
C1C2	13.4	2.84*	2.80*	0.50	--

(*): significativo para $P \leq 0.05$

Tabela 18 - Comparação múltipla para a latência do início da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CR1 dos experimentos de interrupção de 25 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C1	C3	C1C2	C1C3
C1	21.7	--			
C3	17.5	0.11	--		
C1C2	10.0	2.46*	3.14*	--	
C1C3	8.8	1.97*	2.21*	0.59	--

(*): significativo para $P \leq 0.05$

As Tabelas 19 e 20 comparam o início dos ataques C1, C3, C1C3 e C1C2 no grupo controle dos experimentos de 15 e 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro respectivamente. Na Tabela 19 o início dos ataques C1 diferiu do início dos ataques bifásicos. Já na Tabela 20 C1 difere dos ataques C1C3 e C3.

Tabela 19 - Comparação múltipla para a latência do início da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CTRL dos experimentos de interrupção de 15 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C1	C3	C1C3	C1C2
C1	32.5	--			
C3	31.8	0.98	--		
C1C3	18.5	2.69*	1.36	--	
C1C2	18.0	2.50*	1.37	0.52	--

(*): significativo para $P \leq 0.05$

Tabela 20 - Comparação múltipla para a latência do início da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CTRL dos experimentos de interrupção de 25 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C1	C1C2	C1C3	C3
C1	20.6	--			
C1C2	19.9	0.08	--		
C1C3	15.5	2.31*	1.35	--	
C3	14.3	2.18*	1.30	0.96	--

(*): significativo para $P \leq 0.05$

O início do ataque procursivo também foi analisado entre os grupos experimentais em cada tipo de crise. Este procedimento não revelou diferença significativa em nenhuma das corridas pré-convulsivas registradas nos experimentos de 15 segundos de interrupção do som. Entretanto, nos experimentos de 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro, os ataques terminados em convulsão (C3 e C1C3) diferiram significativamente para esta variável (Tabela 21).

Tabela 21 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a latência do início da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 segundos e 25 para cada tipo de ataque audiogênico.

Tipos de Ataque	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
C3	2.278	NS	16.233	*
C1	0.778	NS	1.004	NS
C1C3	3.426	NS	7.335	*
C1C2	2.685	NS	4.912	NS

(Sg)Significância: (*) $P \leq 0.05$: GL=2

Nas comparações múltiplas dos experimentos realizados com 25 segundos de interrupção do som das corridas monofásicas C3 , foi encontrado diferença entre a latência para o início do ataque entre os grupos PRE e CTRL. As demais comparações não diferiram (Tabela 22). Nas crises do tipo C1C3 foi possível observar, por intermédio dos testes de comparações múltiplas, que o grupo CR1 diferiu de todos os demais grupos (Tabela 23).

Tabela 22 - Comparação múltipla entre os grupos de interrupção do estímulo acústico em 25 segundos para o início da primeira corrida procursiva nos ataques do tipo C3.

Grupo Experimental	Média do grupo	Valor de U		
		PRE	CR1	CTRL
PRE	24.9	--		
CR1	17.5	1.19	--	
CTRL	14.3	3.89*	1.64	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

Tabela 23 - Comparação múltipla entre os grupos de interrupção do estímulo acústico em 25 segundos para o início da primeira corrida procursiva nos ataques do tipo C1C3.

Grupo Experimental	Média do grupo	Valor de U		
		PRE	CTRL	CR1
PRE	22.1	--		
CTRL	15.5	1.56	--	
CR1	8.8	2.34*	2.00*	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

As latências para o início da segunda corrida procursiva nos ataques audiogênicos bifásico C1C3 e C1C2 são apresentadas nas Figuras 20 e 21 para os diferentes grupos dos experimentos de interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro. A latência dos ataques do tipo C1C3 nos grupos PRE-25, CR1-25 e PEC-25 foram as únicas a apresentarem diferença significativa em relação ao controle, conforme a Figura 20. Esta diferença não foi constatada nos ataques C1C2.

A diferença da latência, nos grupos experimentais, para o início da segunda fase de corridas nas crises bifásicas C1C3 e C1C2 é apresentado na Tabela 24. As crises C1C3 e

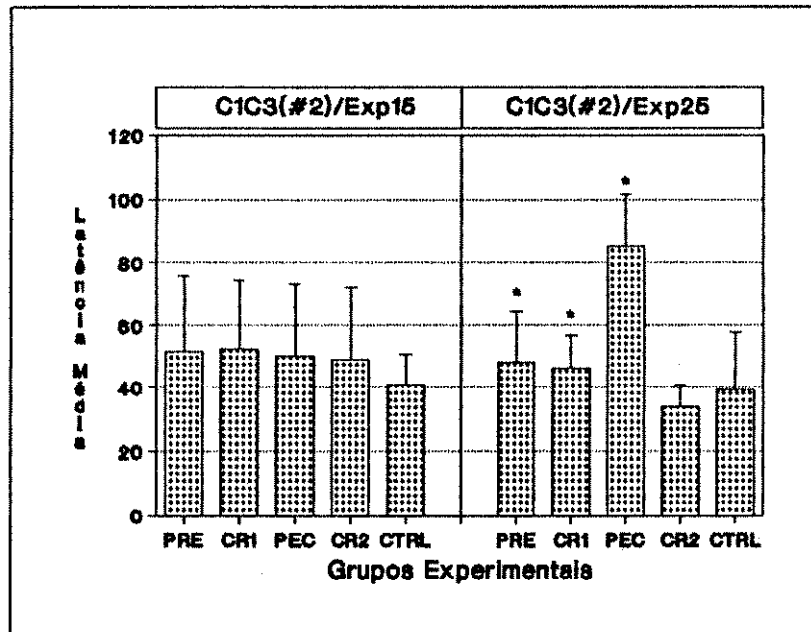


Figura 20 - Valor médio em segundos e desvio padrão da latência para o início da segunda corrida procursiva em ataques audiogênicos bifásicos C1C3 nos grupos experimentais PRE, CR1, PEC, CR2 E CTRL nos experimentos de interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

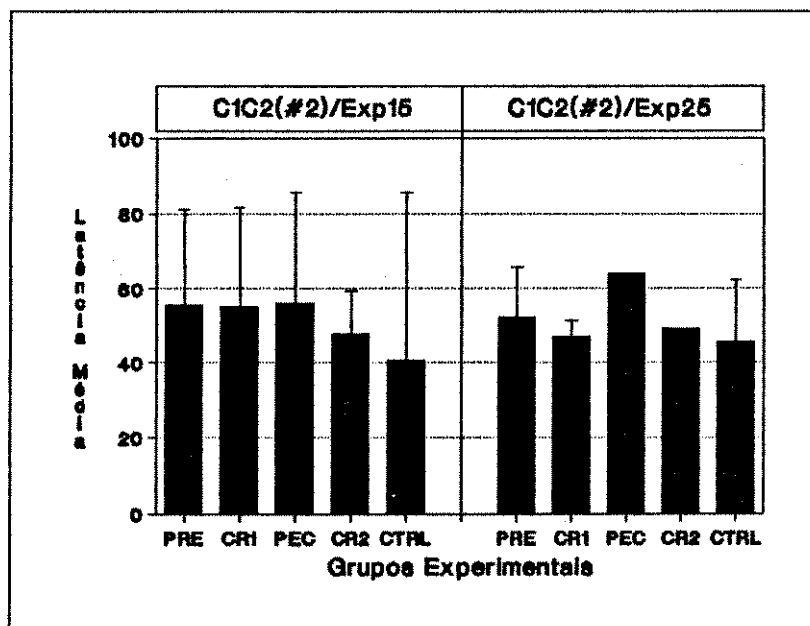


Figura 21 - Valor médio em segundos e desvio padrão da latência para o início da segunda corrida procursiva em ataques audiogênicos bifásicos C1C3 nos grupos experimentais PRE, CR1, PEC, CR2 E CTRL nos experimentos de interrupção de 25 segundos do estímulo sonoro.

C1C2 diferiram somente no grupo PRE-15, apresentando valores semelhantes nos demais grupos.

O resultado do teste de Kruskal-Wallis entre os 5 grupos dos experimentos com 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro nas crises C1C3 e C1C2, não revelaram diferenças significativa na latência de início da segunda corrida procursiva. Entretanto, nos grupos do experimento com 25 segundos de interrupção, os ataques C1C3 diferiram significativamente ($H_{25}=16.720$), o mesmo não acontecendo para C1C2 (Tabela 25).

Tabela 24 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis entre os tipos de ataque para latência do início da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 segundos e 25 segundos.

Grupo Experimental	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
PRE	0.272	NS	1.082	NS
CR1	0.234	NS	0.510	NS
PEC	2.001	*	0.878	NS
CR2	0.198	NS	1.549	NS
CTRL	0.334	NS	1.609	NS

(Sg)Significância: (*) para $P \leq 0.05$: GL=3

Tabela 25 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para latência do início da segunda corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 segundos e 25 segundos.

Tipos de Ataque	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
C1C3	1.384	NS	21.700	*
C1C2	1.858	NS	1.790*	NS
Bifásico	0.148	NS	1.493	NS

(Sg)Significância: (*) para $P \leq 0.05$: GL=4: (x) para GL=2

A diferença encontrada na Tabela 25, levou ao teste de comparações múltiplas para este tipo de corrida, conforme é apresentado na Tabela 26. Este teste revelou a formação de três grupamentos: (a) um contendo os grupos CR2 e CTRL e (b) outro contendo os grupos CR1 e PEC e c) um último contendo o grupo PEC.

Tabela 26 - Comparação múltipla entre os grupos experimentais de interrupção de 25 segundos do estímulo acústico para a variável início da segunda corrida procursiva dos ataques do tipo C1C3.

Grupo Experimental	Média dos grupos	Valor de U				
		PEC	PRE	CR1	CTRL	CR2
PEC	85.2	--				
PRE	48.0	2.95*	--			
CR1	46.1	2.78*	0.00	--		
CTRL	39.4	2.99*	2.64*	1.97*	--	
CR2	34.0	2.93*	2.81*	2.36*	0.08	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

O valor médio em segundos do término da corrida pré-convulsiva das crises monofásicas C3 e C1 e da primeira corrida procursiva dos ataques bifásicos C1C3 e C1C2 estão representados nas Figuras 22 e 23 para os experimentos com 15 e 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro. Cada grupo experimental foi comparado com seu respectivo controle em cada tipo de ataque. Esta comparação não demonstrou significância em nenhum dos experimentos de 15 segundos de interrupção do estímulo. Entretanto, para os experimentos com interrupção de 25 segundos de interrupção, foi constatada diferença no final da corrida procursiva do grupo PRE-25 em

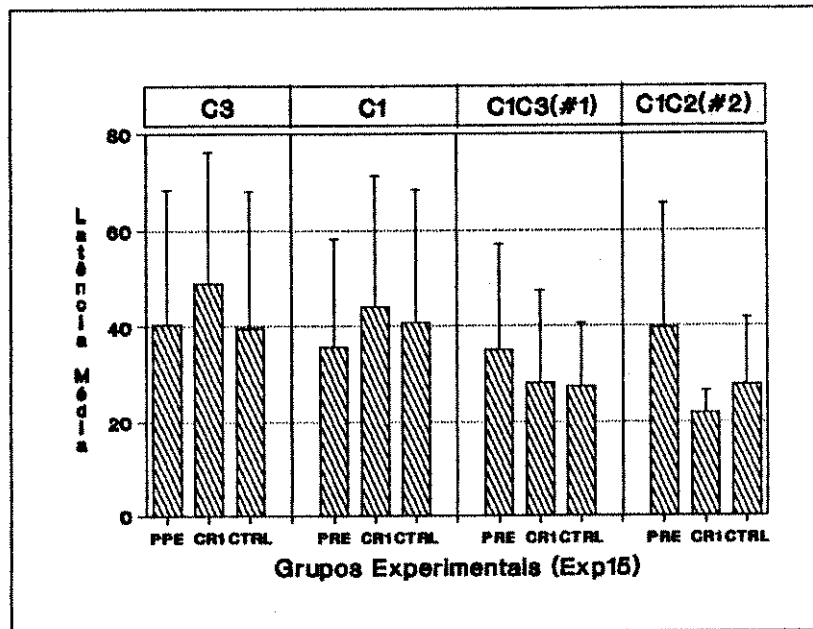


Figura 22 - Valor médio de latência para o final das corridas procursiva nos ataques C3 e C1 e do primeiro episódio de corrida dos ataques bifásicos C1C3 e C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL com interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro.

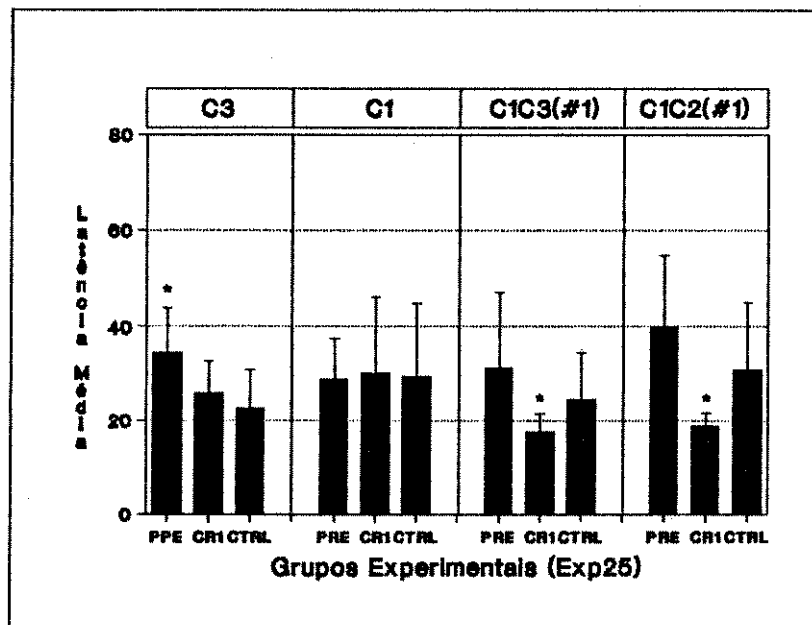


Figura 23 - Valor médio de latência para o final das corridas procursiva nos ataques C3 e C1 e do primeiro episódio de corrida dos ataques bifásicos C1C3 e C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL com interrupção de 25 segundos do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

relação ao controle nos ataques C3 ($U=3.808$), bem como no final do primeiro episódio de corrida dos ataques C1C3 e C1C2 para o grupo CR1-25 em relação à CTRL-25 ($U_{c1c3}=2.500$; $U_{c1c2}=2.165$).

O final da primeira corrida é comparada entre todos os tipos de ataques observados (monofásicos e bifásicos) na Tabela 27 por meio do teste de Kruskall-Wallis. No grupo PRE não foi possível determinar qualquer diferença estatística entre o final das diferentes crises em nenhum dos experimentos. Porém, o valor de H para os experimentos CR1 e CTRL foi significativo em ambos os experimentos (15 e 25).

Tabela 27 - Resultado do teste de Kruskall-Wallis entre os tipos de ataque para o latência do final da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 segundos e 25 segundos.

Grupo Experimental	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
PRE	0.425	NS	2.504	NS
CR1	11.822	*	11.309	*
CTRL	8.101	*	15.556	*

(Sg)Significância: (*) para $P \leq 0.05$: GL=3

Os grupos que diferiam significativamente na tabela acima foram analisados através de comparações múltiplas das diferentes corridas (Tabelas 28, 29, 30, 31). Desta forma, para o grupo CR1-15 e CR1-25, as corridas monofásicas, em geral com média mais elevada para o término dos episódios procursivos, formaram um grupo diferindo das crises bifásicas, que por sua vez formaram um segundo grupo homogêneo (Tabela 28 e 29).

Tabela 28 - Comparação múltipla para latência do final da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CR1 dos experimentos de interrupção de 15 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C3	C1	C1C3	C1C2
C3	48.9	--			
C1	44.1	1.07	--		
C1C3	28.2	2.27*	2.54*	--	
C1C2	21.8	2.84*	2.46*	0.70	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

Tabela 29 - Comparação múltipla para a latência do final da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CR1 dos experimentos de interrupção de 25 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C1	C3	C1C2	C1C3
C1	30.2	--			
C3	25.8	0.19	--		
C1C2	17.4	2.20*	2.78*	--	
C1C3	18.7	1.97*	2.00*	0.59	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

No grupos CTRL-15 foram identificadas diferenças na latência para o término das corridas dos ataques C1 em relação à primeira corrida dos ataques bifásicos C1C3 e C1C2 (Tabela 30). Na Tabela 31 a comparação múltipla do final da primeira corrida das crises obtidos no grupo controle dos experimentos com 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro revelou diferença entre os ataques C3 e os demais, bem como entre C1 e C1C3.

Tabela 30 - Comparação múltipla para o final da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CTRL dos experimentos de interrupção de 15 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C1	C3	C1C2	C1C3
C1	40.9	--			
C3	39.4	1.25	--		
C1C2	27.8	2.16*	0.63	--	
C1C3	27.6	2.69*	0.90	0.06	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

Tabela 31 - Comparação múltipla para a latência do final da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CTRL dos experimentos de interrupção de 25 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C1C2	C1	C1C3	C3
C1C2	30.9	--			
C1	29.4	0.08	--		
C1C3	24.4	2.74*	2.21*	--	
C3	22.5	3.27*	2.77*	0.96	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

O final da primeira corrida foi analisado também entre os grupos experimentais PRE, CR1, CTRL para cada tipo de ataque (Tabela 32). Os ataques obtidos nos experimentos com interrupção de 15 segundos do som não apresentaram diferença em nenhum dos três grupos. Já nos experimentos com 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro, foram observadas diferenças entre todos os tipos de ataque, com exceção dos monofásicos não terminados em convulsão (C1).

Tabela 32 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para latência do término da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 segundos e 25 para cada tipo de ataque audiogênico.

Tipos de Ataque	(H15)	Sg	(H25)	Sg
C3	2.038	NS	16.360	*
C1	0.172	NS	0.516	NS
C1C3	4.903	NS	7.852	*
C1C2	2.425	NS	6.704	*

(Sg)Significância: (*) $P \leq 0.05$: GL=2

As Tabelas 33, 34 e 35 demonstram as comparações múltiplas entre os grupos PRE, CR1 e CTRL nos ataques C3, C1C3 e C1C2 respectivamente. As crises C3 apresentaram diferença somente entre os grupos PRE e CTRL para $P > 0.05$. As crises C1C3 diferiram os grupos PRE e CR1 . E finalmente, nas crises C1C2, o grupo CR1 diferiu dos demais.

Tabela 33 - Comparação múltipla entre os grupos de interrupção do estímulo acústico em 25 segundos para a variável final da primeira corrida procursiva nos ataques do tipo C3.

Grupo Experimental	Média do grupo	Valor de U		
		PRE	CR1	CTRL
PRE	34.5	--		
CR1	25.8	1.699	--	
CTRL	22.5	3.889*	1.636	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

Tabela 34 - Comparação múltipla entre os grupos de interrupção do estímulo acústico em 25 segundos para a variável início da primeira corrida procursiva nos ataques do tipo C1C3.

Grupo Experimental	Média do grupo	Valor de U		
		PRE	CTRL	CR1
PRE	31.3	--		
CTRL	24.4	1.70	--	
CR1	17.4	2.55*	1.84	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

Tabela 35 - Comparação múltipla entre os grupos de interrupção do estímulo acústico em 25 segundos para a variável início da primeira corrida procursiva nos ataques do tipo C1C2.

Grupo Experimental	Média do grupo	Valor de U		
		PRE	CTRL	CR1
PRE	39.8	--		
CTRL	30.9	1.28	--	
CR1	18.7	2.32*	2.02	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

A Figura 24 apresenta o valor médio em segundos do final do segundo episódio de corrida das crises bifásicas terminadas em convulsão. As corridas bifásicas não terminadas em convulsão (C1C2), não foram consideradas, tendo em vista que seu término fora sempre imposto pelo experimentador, devido ao fato destes ataques se prolongarem até o final da estimulação. A latência média para o final da última corrida das crises C1C3 nos grupos PRE, CR1, PEC e CR2 dos experimentos de 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro apresentam um valor bastante similar e um

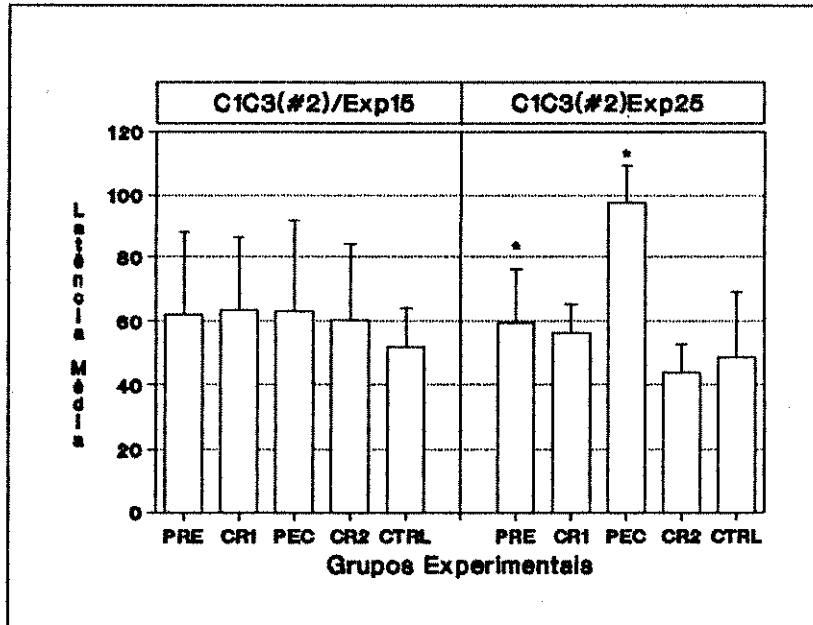


Figura 24 - Valor médio em segundos e desvio padrão da latência para o término do segundo episódio de corrida procursiva em ataques audiológicos bifásicos (C1C3) nos grupos experimentais PRE, CR1, PEC, CR2 E CTRL nos experimentos com interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

pouco mais elevada em relação ao seu controle (CTRL-15). Porém, esta elevação não se manifestou estatisticamente significativa. Nos grupos do experimento com interrupção de 25 segundos do estímulo sonoro, foram encontradas diferenças dos grupos PRE-25 e PEC-25 em relação ao CTRL-25. Os demais grupos não apresentaram diferenças significativas.

A avaliação da diferença entre os cinco grupos experimentais para as corridas bifásicas C1C3 revelou significância nos experimentos de 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro (Tabela 36).

Tabela 36 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para o término da segunda corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora DE 15 segundos para cada tipo de ataque audiogênico.

Tipos de Ataque	(H15)	Sg	(H25)	Sg
C1C3	1.858	NS	20.528	*

(Sg)Significância: (*) $P \leq 0.05$: GL=4

O valor significativo de H15, foi analisado através de comparações múltiplas, a fim de determinar que grupos diferiam. A Tabela 37 ilustra este procedimento. Três grupamentos de média similar para o final da segunda corrida foram identificados. Um grupamento contendo PRE e CR1, um segundo grupamento contendo CR2 e CTRL, e um grupamento contendo PEC, que diferiu de todos os demais.

Tabela 37 - Comparação múltipla entre os grupos experimentais de interrupção de 25 segundos do estímulo acústico para a variável início da segunda corrida procursiva dos ataques do tipo C1C3.

Grupo Experimentais	Média dos grupos	Valor de U				
		PEC	PRE	CR1	CTRL	CR2
PEC	97.8	--				
PRE	59.6	2.93*	--			
CR1	56.3	3.06*	0.19	--		
CTRL	48.7	2.98*	1.86	2.45*	--	
CR2	43.9	2.93*	2.26*	2.47*	0.17	--

(*):significante para $P \leq 0.05$

4.2.3. Efeito da interrupção do estímulo sonoro sobre a latência entre os episódios de corridas bifásicas

A latência entre os episódios de corrida nos ataques bifásicos é analisado nas Figuras 25 e 26 para os dois ex-

perimentos de interrupção do estímulo. As maiores latências foram observadas nos grupos PEC e CR1. A comparação entre os grupos experimentais com seu respectivo controle não revelou alterações nas latências nos experimentos com interrupção de 15 segundos do estímulo nos ataques C1C3. Nos experimentos com interrupção de 25 segundos do estímulo, os ataques bifásicos convulsivos (C1C3), apresentaram elevação na latência das corridas dos grupos PEC-25 e CR1-25 em relação ao grupo CTRL-25 (Figura 25). Nos ataques bifásicos não terminados em convulsão (C1C2) foi somente observada elevação da latência dos grupos CR1-25 em relação ao seu controle (Figura 26).

As latências entre corridas dos ataques bifásicos C1C2 e C1C3 obtidos nos cinco grupos experimentais foram comparadas em cada um dos experimentos de interrupção do estímulo sonoro (15 e 25 segundos). Não foi identificada diferença entre estes valores para a maioria dos grupos (Tabela 38). Somente o grupo PEC apresentou diferença significativa entre a latência das corridas dos ataques terminados e não terminados em convulsão.

Tabela 38 - Teste U entre os tipos de ataque para a latência entre corridas bifásicas nos experimentos de interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro.

Grupo Experimental	(H15)	Sg	(H25)	Sg
PRE	0.242	NS	1.304	NS
CR1	0.535	NS	0.102	NS
PEC	2.425	**	0.878	NS
CR2	0.396	NS	0.387	NS
CTRL	0.367	NS	0.762	NS

(Sg)Significância: (**) $P \leq 0.05$: GL=1

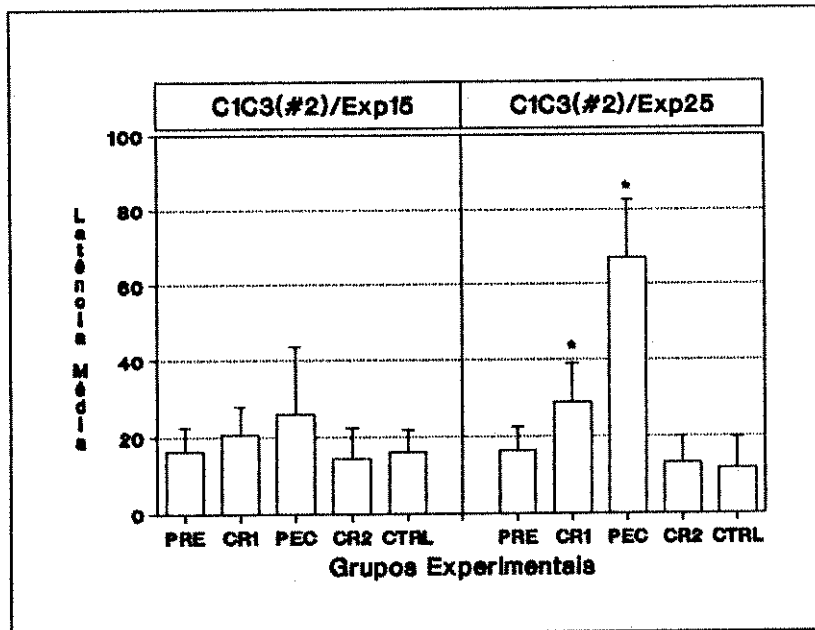


Figura 25 - Valor médio em segundos e desvio padrão da latência entre corridas dos ataques bifásicos C1C3 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL dos experimentos de 15 e 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

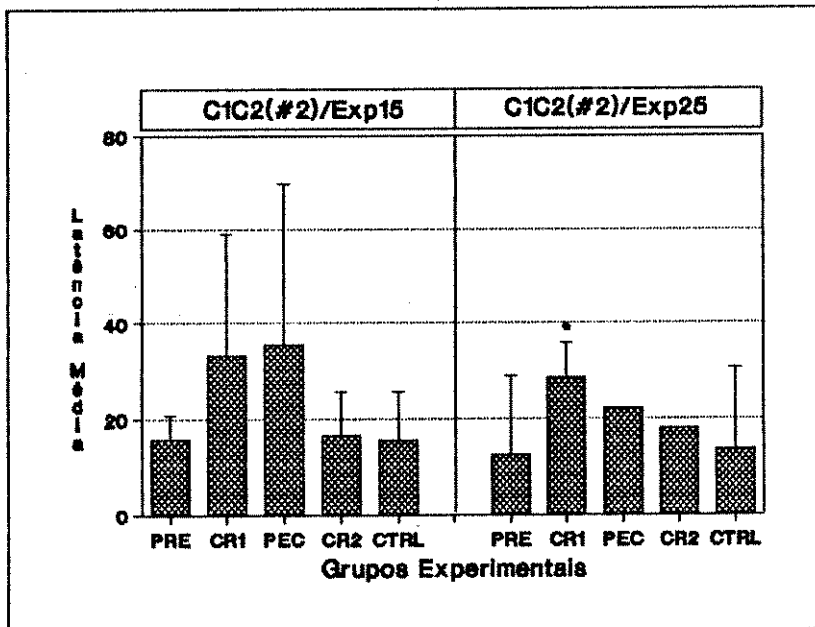


Figura 26 - Valor médio em segundos e desvio padrão da latência entre corridas dos ataques bifásicos C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL dos experimentos de 15 e 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

Por fim, foram comparados em cada tipo de ataque as latências entre corridas bifásicas registradas nos cinco grupos experimentais, conforme a Tabela 39. A comparação não identificou diferença entre os grupos nos experimentos de 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro. Entretanto, nos experimentos com 25 segundos de interrupção, os ataques C1C3 apresentaram um valor de H que diferia significativamente para $P=0.05$ ($GL=4$).

Tabela 39 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a latência entre corridas bifásicas nos grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos.

Tipos de Ataque	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
C1C3	7.763	NS	25.294	**
C1C2	2.919	NS	6.522*	NS

(Sg)Significância: (**) $P \leq 0.05$: $GL=4$: (x) para $GL=2$

A Tabela 40 apresenta a comparação múltipla dos ataques do tipo C1C3 para identificar os grupos que diferiam em seus valores de latência entre corridas. Três grupamentos foram identificados: (a) um grupamento contendo o grupo PEC; (b) um segundo com o grupo CR1 e (c) e um terceiro com os grupos PRE, CR2 e CTRL.

Tabela 40 - Comparação múltipla entre os grupos experimentais de interrupção de 25 segundos do estímulo acústico para a variável latência entre corridas bifásicas nos ataques do tipo C1C3.

Grupo Experimental	Média dos grupos	Valor de U				
		PEC	CR1	PRE	CR2	CTRL
PEC	41.8	--				
CR1	28.8	2.85*	--			
PRE	16.7	3.38*	2.60*	--		
CR2	13.3	2.93*	2.78*	1.09	--	
CTRL	11.8	3.35*	3.25*	1.82	0.53	--

4.2.4. Efeito da interrupção do estímulo sonoro sobre a duração, intensidade e velocidade das corridas procursivas

A duração média em segundos das corridas monofásicas (C3 e C1) e bifásicas (C1C3 e C1C2) é apresentada na Figuras 27 e 28 para experimentos de interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro. A análise das corridas nos grupos PRE e CR1 em relação à seu controle, em cada tipo de ataque, não apresentou diferença significativa nos experimentos de 15 e 25 segundos de interrupção, exceto no grupo CR1-15 das crises C1 ($U=2.114; P>0.05$).

O resultado do teste de Kruskal-Wallis para a duração da primeira corrida audiogênica observada entre os diferentes tipos de crises não foi significativo nos grupos PRE e CR1. Porém, foi observada significância entre os grupos controle (CTRL) para ambos experimentos (Tabela 41). A comparação dos quatro tipos de ataque no grupo controle pode identificar diferença na duração da primeira corrida das crises bifásicas em relação as monofásicas no CTRL-15, exceto entre os ataques do tipo C1 e C1C3 (Tabela 42). A comparação da duração dos mesmos tipos de ataques no CTRL-

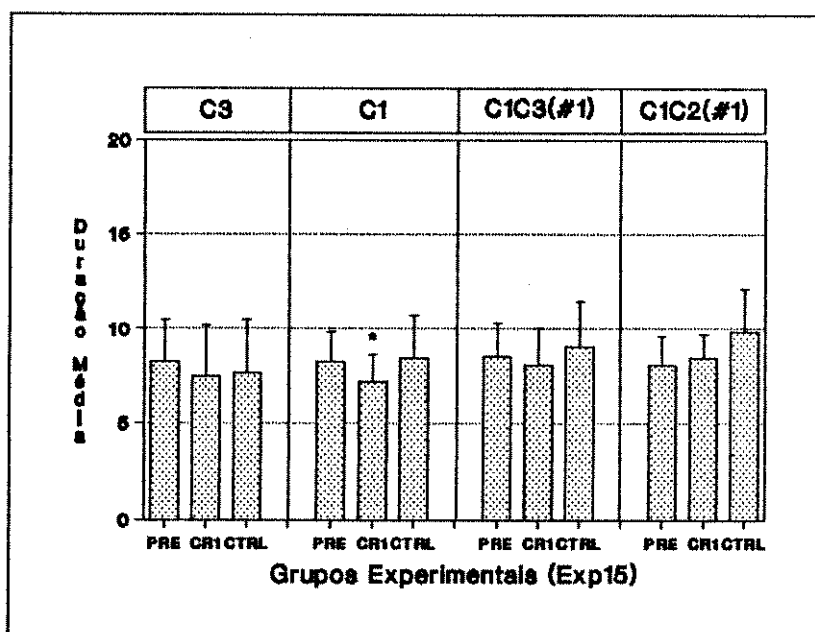


Figura 27 - Valor médio em segundos e desvio padrão da duração das corridas dos ataques C3 e C1 e da primeira corrida procursiva em ataques audiogênicos bifásicos C1C3 e C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL com interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

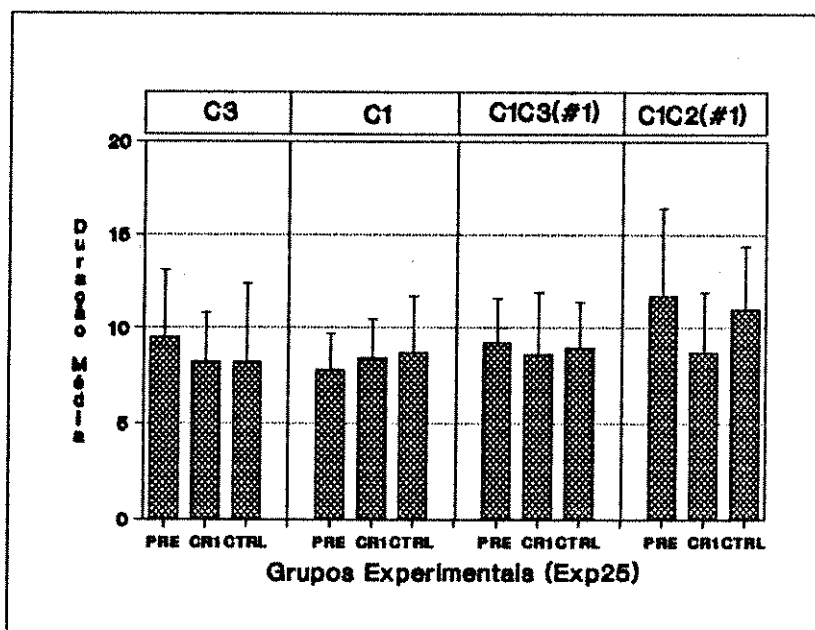


Figura 28 - Valor médio em segundos e desvio padrão da duração das corridas dos ataques C3 e C1 e da primeira corrida procursiva em ataques audiogênicos bifásicos C1C3 e C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL com interrupção de 25 segundos do estímulo sonoro.

25, revelou diferença significativa somente entre a primeira corrida das crises C1C2 em relação as demais (Tabela 43)

Tabela 41 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis entre os tipos de ataque para duração da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos.

Grupo Experimental	(H15)	Sg	(H25)	Sg
PRE	0.865	NS	3.331	NS
CR1	5.119	NS	0.248	NS
CTRL	13.188	*	11.072	*

(Sg)Significância: (*) $P \leq 0.05$: GL=3

Tabela 42 - Comparação múltipla para a duração da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CTRL dos experimentos de interrupção de 15 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C1C2	C1C3	C1	C3
C1C2	9.8	--			
C1C3	9.0	1.22	--		
C1	8.4	2.36*	1.39	--	
C3	7.6	2.99*	2.51*	1.61	--

(*): significativo para $P \leq 0.05$

Tabela 43 - Comparação múltipla para a duração da primeira corrida procursiva entre os tipos de ataques obtidos no grupo CR1 dos experimentos de interrupção de 25 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C1C2	C1C3	C1	C3
C1C2	11.0	--			
C1C3	8.9	2.20*	--		
C1	8.7	2.26*	0.06	--	
C3	8.2	2.99*	1.74	1.75	--

(*): significativo para $P \leq 0.05$

Também não foi encontrada diferença na duração da corrida procursiva entre os grupos PRE, CR1 e CTRL para cada tipo de ataque, conforme a Tabela 44.

Tabela 44 - Resultado do teste de Kruskall-Wallis para a duração da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos para cada tipo de ataque audiológico.

Tipos de Ataque	(H15)	Sg	(H25)	Sg
C3	0.404	NS	2.139	NS
C1	4.998	NS	0.802	NS
C1C3	4.926	NS	0.727	NS
C1C2	5.373	NS	0.540	NS

(Sg)Significância: (**) $P \leq 0.05$: GL=2

A duração média em segundos para a segunda corrida procursiva nas crises do tipo C1C3 é apresentado na Figura 29. Os ataques C1C2 não foram considerados devido ao fato de seu término ser induzido (corridas sustentadas até o término da estimulação), como já comentado. Nenhum dos grupos quando comparados ao seu controle demonstrou diferença significativa.

Finalmente, o teste de Kruskall-Wallis para a duração da segunda corrida, ilustrado na Tabela 45, não revelou diferenças entre os cinco grupos experimentais para as crises do tipo C1C3.

Tabela 45 - Resultado do teste de Kruskall-Wallis da duração da segunda corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos para cada tipo de ataque audiológico.

Tipos de Ataque	(H15)	Sg	(H25)	Sg
C1C3	2.479	NS	5.113	NS

(Sg)Significância: (**) $P \leq 0.05$: GL=4

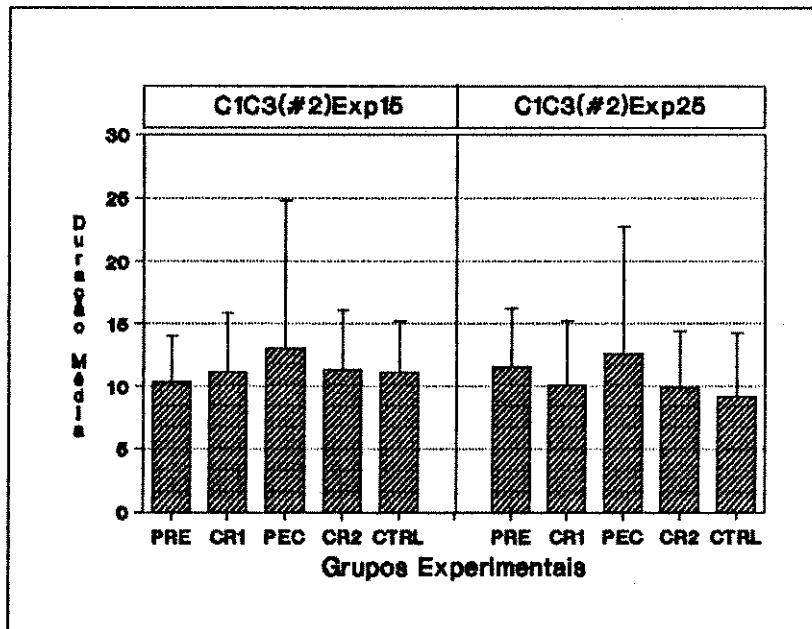


Figura 29 - Valor médio em segundos e desvio padrão duração da segunda corrida procursiva em ataques audiogênicos C1C3 nos grupos experimentais PRE, CR1, PEC, CR2 E CTRL nos experimentos de 15 e 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro.

A média de velocidade das corridas monofásicas e da primeira das corridas bifásicas nos experimentos de interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro encontram-se representadas na Figura 30 e 31. A velocidade destas corridas se apresenta bastante semelhante entre os tipos de ataques considerados. As corridas obtidas nos grupos PRE e CR1 não apresentaram variação de sua velocidade em relação as obtidas nos grupos controle em todos os tipos de ataques (em ambos os experimentos de interrupção do estímulo sonoro).

A análise da diferença da velocidade média entre os quatro tipos de ataque nos grupos PRE, CR1 e CTRL é ilus-

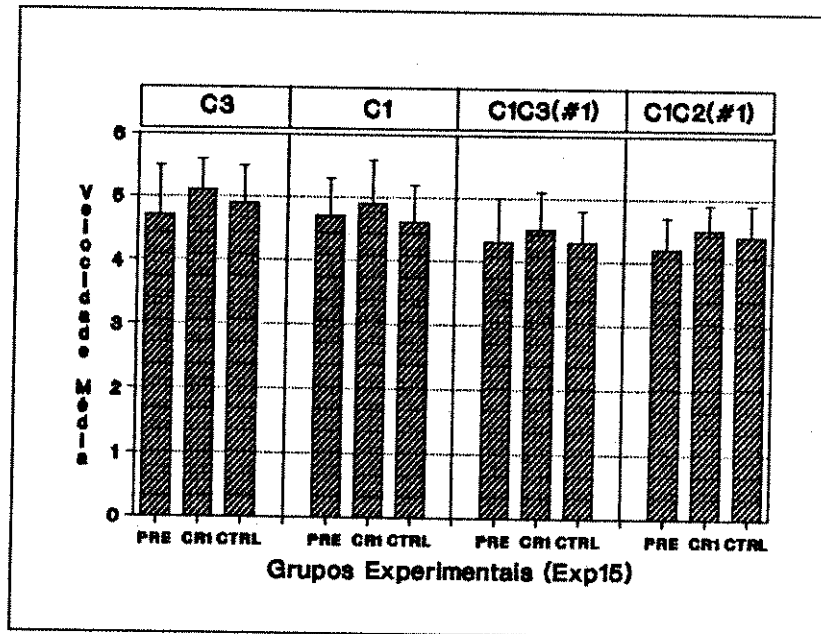


Figura 30 - Valor médio em pulsos por segundo e desvio padrão da velocidade das corridas dos ataques C3 e C1 e da primeira corrida procursiva dos ataques audiogênicos bifásicos C1C3 e C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL com interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro.

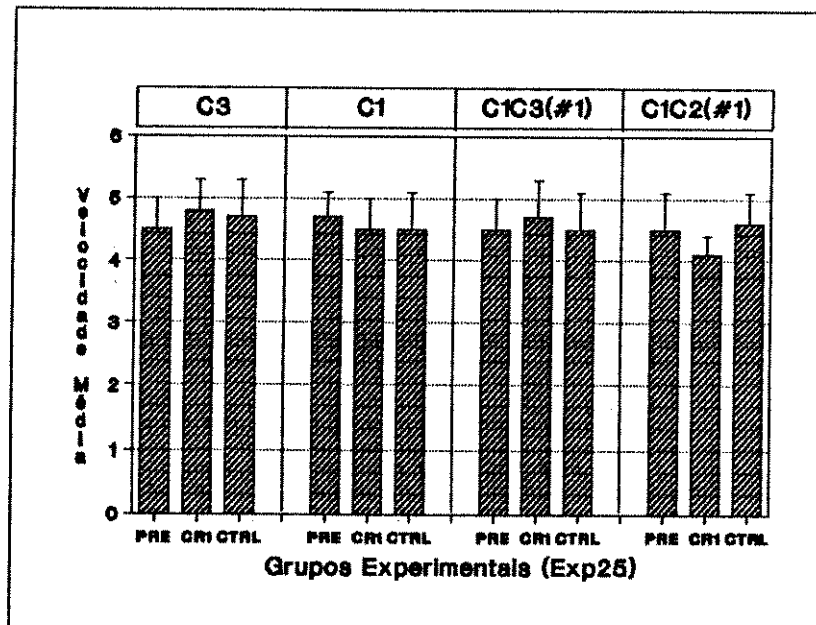


Figura 31 - Valor médio em pulsos por segundo e desvio padrão da velocidade das corridas dos ataques C3 e C1 e da primeira corrida procursiva dos ataques audiogênicos bifásicos C1C3 e C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1 e CTRL com interrupção de 25 segundos do estímulo sonoro.

trado pela Tabela 46. Somente o grupo Controle dos experimentos com 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro (CTRL-15) apresentou diferença entre os ataques C3, C1, C1C3 e C1C2. Os demais grupos não apresentaram diferenças significativas. A comparação da velocidade dos quatro tipos de ataques revelou diferença entre a velocidade das crises C3 em relação às demais, bem como entre as crises C1 e a primeira das corridas dos ataques C1C3 (Tabela 47). A avaliação da diferença da velocidade das corridas nos grupos PRE, CR1 e CTRL, é demonstrado na Tabela 48. Esta comparação também não revelou qualquer diferença estatisticamente significativa nos quatro tipos de crises.

Tabela 46 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis entre os tipos de ataque para a velocidade da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos.

Grupo Experimental	(H15)	Sg	(H25)	Sg
PRE	6.503	NS	1.092	NS
CR1	3.208	NS	3.337	NS
CTRL	20.198	**	4.433	NS

(Sg)Significância: (*) $P \leq 0.05$; GL=3

Tabela 47 - Comparação múltipla para a velocidade da primeira corrida procursiva nos quatro tipos de ataques obtidos no grupo CTRL dos experimentos de interrupção de 15 segundos do estímulo acústico.

Tipos de Ataque	Média do grupo	Valor de U			
		C3	C1	C1C3	C1C2
C3	4.9	--			
C1	4.6	2.00*	--		
C1C3	4.4	4.30*	2.38*	--	
C1C2	4.3	3.03*	1.26	1.00	--

(*): significativo para $P \leq 0.05$

Tabela 48 - Resultado do teste de Kruskall-Wallis para a velocidade da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos para cada tipo de ataque audiogênico.

Tipos de Ataque	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
C3	1.513	NS	1.214	NS
C1	1.652	NS	1.498	NS
C1C3	5.470	NS	1.476	NS
C1C2	7.972	NS	2.413	NS

(Sg)Significância: (**) $P \leq 0.05$: GL=2

Nas Figuras 32 e 33 é apresentada a velocidade média da segunda das corridas dos ataques bifásicos para todos os cinco grupos (PRE, CR1, PEC, CR2 e CTRL) nos experimentos de interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro. Nos ataques C1C3 estas corridas apresentam em média maior velocidade que as observadas nos ataques não terminados em convulsão C1C2. Em geral, as comparações dos grupos de interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro com seus respectivos controles não apresentaram diferenças, com exceção do grupo PEC-25 das crises C1C3. Neste grupo a velocidade média da segunda corrida dos ataques bifásicos C1C3 foi inferior a apresentada pelo grupo controle (CTRL-25).

A Tabela 49 apresenta a comparação da velocidade média da segunda corrida das crises C1C3 e C1C2 para cada grupo experimental (PRE, CR1, PEC, CR2 e CTRL). A maior parte das comparações mostraram-se significativamente diferentes. Duas exceções foram observadas, no grupo PEC-25 e CR2-25. Entretanto, cabe ressaltar que nestes grupo a amostra foi constituída de um único ataque, oque torna esta comparação

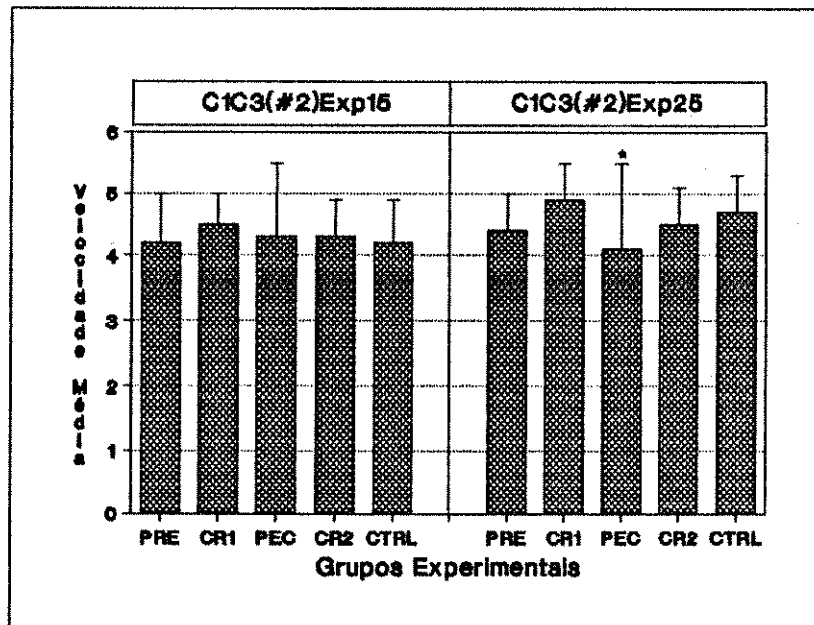


Figura 32 - Valor médio em pulsos por segundo e desvio padrão da velocidade da segunda corrida procursiva em ataques audiogênicos C1C3 nos grupos experimentais PRE, CR1, PEC, CR2 E CTRL nos experimentos de 15 e 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro (o asterisco no topo da barra indica um valor de U significativo em relação ao Controle para $P \leq 0.05$).

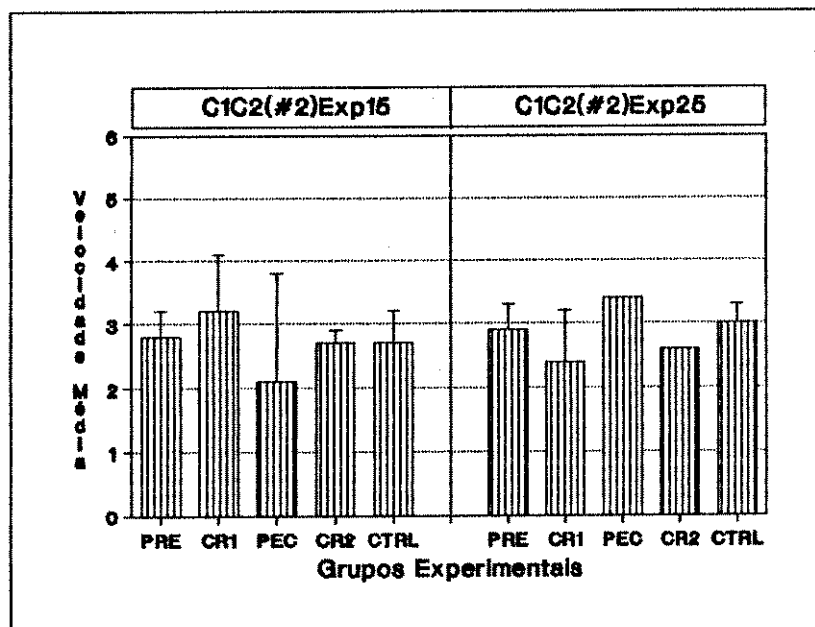


Figura 33 - Valor médio em pulsos por segundo e desvio padrão da velocidade da segunda corrida procursiva em ataques audiogênicos C1C2 nos grupos experimentais PRE, CR1, PEC, CR2 E CTRL nos experimentos de 15 e 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro.

muito pouco precisa.

A velocidade média da segunda corrida dos ataques C1C3 e C1C2 comparada entre os diferentes grupos experimentais não diferiu significativamente (Tabela 50).

Tabela 49 - Teste U entre os tipos de ataque para a velocidade da primeira corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos.

Grupo Experimental	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
PRE	2.966	**	3.436	**
CR1	2.806	**	2.449	**
PEC	2.425	**	1.464	NS
CR2	3.606	**	1.549	NS
CTRL	3.341	**	4.572	**

(Sg)Significância: (*) $P \leq 0.05$: GL=3

Tabela 50 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para a velocidade da segunda corrida procursiva entre os grupos de interrupção sonora de 15 e 25 segundos.

Tipos de Ataque	(H ₁₅)	Sg	(H ₂₅)	Sg
C1C3	1.189	NS	3.772	NS
C1C2	1.238	NS	1.082x	NS

(Sg)Significância: (*) $P \leq 0.05$: GL=4: (x) para GL=2

5. DISCUSSÃO

Inúmeras evidências têm demonstrado a importância da corrida pré-convulsiva no ataque audiogênico em roedores (WARD e COLLINS, 1971; WILLOT, 1974; REID e COLLINS, 1982, 1986, 1989A, 1989B). O presente trabalho teve por objetivo estudar quantitativamente diversos parâmetros envolvidos na fase pré-convulsiva dos ataques audiogênicos no rato albino (*Rattus norvegicus*, variedade Wistar), utilizando um dispositivo semi-computadorizado especialmente desenvolvido para registro e análise dos episódios de corrida. Para tanto, foram estudados o efeito da intensidade de estimulação sonora e a ação de diferentes situações experimentais de interrupção do estímulo sonoro ao longo do ataque sobre a fase motora procursiva, relacionando estes resultados aos possíveis mecanismos neurais envolvidos no fenômeno.

5.1 ANÁLISE DO EFEITO DA INTENSIDADE DO ESTÍMULO SONORO SOBRE OS EPISÓDIOS DE CORRIDA DA FASE PRÉ-CONVULSIVA DO ATAQUE AUDIOGÊNICO

A elevação da intensidade do estímulo sonoro parece estar relacionada ao o aumento da severidade dos ataques. Em nosso experimento, embora nem sempre com evidência estatística, os resultados indicaram que à medida em que a intensidade de estimulação sonora era elevada, ocorria uma substituição de formas mais amenas de ataques audiogênicos por

formas mais severas. Nos experimentos utilizando 101 dB de intensidade sonora (a menor intensidade sonora investigada), formas não convulsivas de crise (C1 e C1C2) apresentam seu máximo de frequência. A elevação da frequência destes tipos de ataques (de menor severidade) em 101 dB, parece ter substituído em parte as corridas convulsivas (C1C3 e C3). Nos grupos experimentais com intensidade de estimulação de 110, 118 e 122 dB os resultados obtidos sugerem uma substituição dos ataques bifásicos convulsivos (C1C3) por ataques monofásico do tipo C3. Desta forma, considerando que os ataques podem ser classificados quanto a sua severidade como: $C3 > C1C3 > C1C2 > C1$, onde ">" representa "maior severidade", é possível sugerir uma relação entre a intensidade do estímulo sonoro e a severidade do ataque, baseado somente no tipo de corrida pré-convulsiva observado. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por FLESS e LEHMANN (1961), MALINOVSKY (1954) e KRUSHINSKY (1949) (citados por KRUSHINSKY, 1963) que também relatam uma relação semelhante a encontrada no presente experimento. De acordo com estes autores, a elevação da intensidade do estímulo sonoro determina a substituição de ataques bifásicos convulsivos por monofásicos convulsivos. ALEXANDER e ALEXANDER (1976) também descreveram uma relação aproximadamente linear entre a intensidade do estímulo e a resposta convulsiva monofásica apresentada por camundongos susceptíveis à convulsão audiogênica. Para tanto, uma classificação de severidade foi sugerida pelos autores, conforme a Tabela 51. Estimulações sonoras de diferentes intensidades foram apresentadas aos

animais e a resposta convulsiva média (severidade do ataque) do grupo em cada intensidade sonora foi calculada pela seguinte equação:

$$RG = \left(\frac{\sum \text{respostas individuais}}{10 \times n} \right) \times 100\%$$

onde RG é a resposta do grupo, n o número de animais e "10" a severidade máxima de ataque apresentada por um indivíduo (conforme a Tabela 51). Uma reta determinando a relação entre a intensidade do estímulo e a severidade do ataque foi obtida na faixa de 69 à 84.5 dB (20 Khz), com manifestação mínima do ataque em 69 dB e máxima em 84.5 dB.

Tabela 51 - Escala de severidade dos ataques audiogênicos induzidos em camundongos da linhagem O'Grady sobre estimulação sonora de 74 dB e frequência de 22 Khz, conforme ALEXANDER e ALEXANDER (1976).

manifestação máxima do ataque	latência da corrida (segundos)	valor de severidade atribuído ao ataque
Convulsão tônica	>=5	10
Convulsão tônica	>=6	9
Convulsão tônica	>=7	8
Convulsão tônica	>=8	7
Convulsão tônica	>=9	6
Convulsão tônica	>=10	5
Convulsão tônica	>=11-12	4
Convulsão tônica	>=13	3
Corrida procursiva	<=6	2
Corrida procursiva	>7	1

A intensidade do estímulo sonoro também tem sido associada a uma redução nos períodos de latência de início e término das corridas pré-convulsivas das crises normais (ALEXANDER e ALEXANDER, 1976; ANTONITIS, 1954), bem como induzidas por *priming* (GATES e CHEN, 1975; SCHREIBER, 1977). No presente experimento o aumento da intensidade de estimulação sonora parece não ter exercido efeito significativo sobre a latência de início e término das corridas monofásicas C3. Entretanto, uma redução destas latências foi observada nos episódios de corrida pré-convulsiva dos ataques bifásicos em associação à elevação da intensidade do estímulo. Esta redução da latência para o início e término das corridas bifásicas parece indicar um aumento da severidade da crise (conforme ALEXANDER e ALEXANDER, 1976) e sugerir uma tendência à substituição dos ataques C1C3 por ataques C3, nos quais estes parâmetros aparecem em média com valores inferiores.

A análise da duração das corridas das crises C1C3 e C3 não revelou diferença significativa em relação à elevação da intensidade do estímulo sonoro aplicado, assim como à latência de separação entre corridas bifásicas. Entretanto, parece existir uma tendência das crises monofásicas terminadas em convulsão em apresentarem menor duração dos episódios de corrida que as observadas nos ataques bifásicos. Da mesma forma não foram identificadas diferenças significativas entre a velocidade dos ataques em relação à intensidade do estímulo, exceto para as corridas C3 e a primeira corrida dos ataques bifásicos (C1 dos ataques C1C3) nas intensidades de

estimulação de 101 e 122 dB. Nestas, os episódios de corrida C3 apresentaram, em média, maior velocidade que a primeira corrida das crises bifásicas. Além deste fato, embora não significativo estatisticamente, a segunda das corridas bifásicas parece apresentar um valor de velocidade um pouco abaixo ao encontrado nos ataques C3, porém mais elevada que o da primeira das corridas bifásicas. Estes resultados parecem indicar que a duração e velocidade das corridas não se altera com a elevação da intensidade de estimulação sonora. Entretanto, cada tipo de corrida pré-convulsiva parece possuir características particulares, por vezes sutis, que a diferenciam das demais corridas.

5.2 ANÁLISE DO EFEITO DA INTERRUPÇÃO DO ESTÍMULO SONORO SOBRE OS EPISÓDIOS DE CORRIDA DA FASE PRÉ-CONVULSIVA DO ATAQUE AUDIOGÊNICO

5.2.1 Efeito sobre a frequência dos ataques audiológicos

Os tipos de ataque audiológicos observados apresentaram variação em sua frequência em relação aos diferentes experimentos de interrupção do estímulo sonoro realizados. Uma redução dos ataques monofásicos terminados em convulsão (C3) foi verificada no grupo CR1 (interrupção do estímulo sonoro no início do primeiro episódio de corrida da fase procursiva) tanto nos experimentos com 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro, como nos experimentos com 25 segundos de interrupção. Esta redução, embora não significativa estatisticamente nos experimentos com

interrupção de 25 segundos (para $P < 0.05$), parece indicar que a interrupção da fase de corrida procursiva do ataque C3 pode alterar o curso normal da crise, impedindo, em alguns casos, a manifestação da fase convulsiva. Tal resultado está parcialmente de acordo com os obtidos por REID e COLLINS (1989a) em camundongos. REID e COLLINS observaram que a interrupção do estímulo sonoro no princípio da corrida pré-convulsiva em ataques monofásicos (C3) determinava a supressão da fase convulsiva na maior parte dos animais testados. Entretanto, quando o estímulo era administrado novamente, os animais apresentavam um segundo ataque, que conforme as autores, não se assemelhava em seus parâmetros temporais à segunda corrida de um ataque bifásico. A segunda corrida observada apresentava latências muito parecidas às de uma crise do tipo monofásica terminada em convulsão (C3). Desta forma os autores concluíram que a interrupção do estímulo sonoro durante a corrida pré-convulsiva de uma crise monofásica determinava um tipo particular de corrida bifásica, onde a segunda corrida seria uma nova tentativa de corrida monofásica convulsiva. Entretanto, no presente trabalho não foi possível constatar uma elevação significativa da frequência de crises bifásicas neste tipo de experimento, conforme poderia ser esperado segundo os resultados dos autores acima citados. Os ataques C3 abortados pela interrupção do estímulo sonoro parecem ter resultado, em sua maioria, em ataques monofásicos do tipo C1, já que este tipo de crise é o único que apresenta elevação considerável da frequência nestes grupos. Este fato pode ser asso-

ciado à menor susceptibilidade dos animais utilizados em nosso experimento em relação aos utilizados por REID e COLLINS (1982, 1986, 1989a, 1989b).

Os ataques bifásicos C1C3 e C1C2 apresentaram decréscimo em suas frequências em relação ao grupo CTRL nos grupos PEC e CR2 (interrupção do estímulo no final do primeiro episódio de corrida da fase procursiva e no início do segundo respectivamente) dos experimentos com 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro, e CR1, PEC e CR2 dos experimentos com interrupção de 25 segundos. No entanto, esta redução só se torna estatisticamente significativa nos grupos PEC-25 e CR2-25. Estes resultados concordam parcialmente aos descritos por REID e COLLINS (1986) em camundongos SJL/J. Estes autores relataram a supressão da segunda corrida pré-convulsiva e da fase convulsiva em grande parte das crises bifásicas C1C3 nos experimentos com interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro, 15 e 20 segundos após a conclusão da primeira corrida bifásica, bem como a 3 segundos do início da segunda corrida. Neste trabalho, este fenômeno não foi constatado com muita clareza nos ataques bifásicos (C1C3 e C1C2) com a aplicação da interrupção de 15 segundos. Somente com o aumento do período de interrupção foi que esta redução se tornou evidente (Exp25). Além disto, contrário ao observado por Reid e Collins, o aumento do período de interrupção do estímulo na primeira manifestação de corrida procursiva de 15 para 25 segundos, determinou a redução da frequência dos ataques bifásicos no grupo CR1, assim como no final deste episódio

de corrida (Grupo PEC). Entretanto, a supressão completa dos ataques não foi observada em nenhum momento.

5.2.2 Efeito sobre o início, término, duração e velocidade dos episódios de corrida

REID e COLLINS (1986) determinaram a ocorrência de um aumento nas latências para o início e término das corridas pré-convulsivas e fase convulsiva em camundongos em experimentos de interrupção de 15 segundos a 3 segundos após o início da apresentação do estímulo em ataques bifásicos terminados em convulsão, sem que qualquer manifestação procursiva fosse identificada. O aumento observado na latência era aproximadamente proporcional ao período de interrupção imposto no experimento. Este retardo foi atribuído ao fato do animal responder quando da reintrodução do estímulo sonoro, como se um novo experimento fosse iniciado, determinando assim que a latência para o aparecimento da primeira corrida procursiva, mediada a partir da reapresentação do estímulo, fosse semelhante a observada no grupo controle. Os resultados obtidos em nossos experimentos de interrupção de 15 e 25 segundos do estímulo sonoro parecem ter produzido efeito semelhante no grupo PRE (pré estímulo de 5 segundos). A interrupção do estímulo a 5 segundos de sua apresentação não produziu nenhuma alteração significativa, em relação ao grupo controle, no período de latência para o início do primeiro episódio de ataque

(medindo estas latências em relação a reintrodução do estímulo). Entretanto, as latências medidas em relação ao início da apresentação do estímulo apresentam-se acrescidas de um período proporcional a interrupção do estímulo mais 5 segundos (relativo ao pré-estímulo) quando comparadas ao grupo controle. Por outro lado, a interrupção do estímulo sonoro no final da primeira corrida (grupo PEC) parecem ter afetado de maneira significativa os parâmetros de início e término da fase pré-convulsiva das crises monofásicas e das duas corridas dos ataques bifásicos. Um retardo, proporcional a interrupção do estímulo sonoro pode ser observado no grupo PEC-15, porém, no grupo PEC-25, o retardo observado ultrapassava a expectativa da interrupção, principalmente nas crises C1C3. Assim, o aumento do período de suspensão do estímulo sonoro no final da primeira corrida parece determinar uma refratariedade evidenciada pela supressão do curso de grande parte dos ataques, conforme já detalhado na análise de frequência, bem como no retardo significativo do segundo episódio procursivo. Este fenômeno pode ser atribuído a uma possível predominância inibitória no sistema gerador da corrida, acentuada pela queda da excitação devido a ausência do estímulo. Apenas no grupo CR1 (interrupção do estímulo no início do primeiro episódio de corrida procursiva), ao contrário do observado em REID e COLLINS (1986), constatou-se uma redução nas latências de início e término das corridas para as crises bifásicas (C1C3 e C1C2). A interrupção do estímulo neste ponto, ao menos a interrupção de 25 segundos, para os ataques bifásicos, parece ser crítica para o

desenvolvimento do ataque. Nestes, somente a estimulação em animais de maior susceptibilidade parece ter resultado em ataques bifásicos. Uma vez que a susceptibilidade parece estar também relacionada à latência de aparecimento da fase procursiva, pode-se explicar a precocidade destes ataques no grupo CR1-25 em relação à seu controle. Nos grupo CR2, embora tenha sido registrado uma redução significativa do número de ataques bifásicos, não foi evidenciada supressão total, nem retardamento da segunda corrida procursiva. A latência entre corridas (LEC), embora não tenha se modificado nos experimentos com 15 segundos de interrupção do estímulo sonoro, parece ter sofrido alteração após interrupção de 25 segundos do estímulo. Esta alteração, observada nos ataques bifásicos, se manifestou nos grupos CR1 e PEC, o que sugere uma potencialização da inibição através deste procedimento. Possivelmente a interrupção do estímulo tenha permitido a formação de um processo refratário no sistema gerador da corrida procursiva, determinado pela ascensão de um processo inibitório e conseqüente redução da excitação.

Muito embora tenha sido observada grande variabilidade na latência para manifestação das fases do ataque audiogênico nos animais utilizados, os parâmetros de latência entre corridas, duração e velocidade dos episódios procursivos apresentaram-se bastante homogêneos. Assim, no que se refere a estes parâmetros, foi impossível distinguir qualquer alteração significativa dos episódios de corridas analisados em relação a interrupção do estímulo sonoro.

5.3 Considerações finais

Os experimentos de REID e COLLINS (1986, 1989a, 1989b) indicam que o ataque audiogênico é um fenômeno de estrutura temporal relativamente fixa. No entanto, os autores sugerem que a interrupção de 15 segundos do estímulo sonoro, em alguns pontos da fase pré-convulsiva, denominados períodos críticos, estão relacionados a alterações na progressão dos ataques audiogênicos bifásicos em camundongos. Estes períodos são associados aos episódios de corrida procursiva e foram determinados experimentalmente como: antes do início da primeira corrida; e nas proximidades e, ou, na deflagração da segunda corrida. A interrupção do estímulo sonoro antes do início da primeira corrida resultou no aumento das latências de aparecimento das fases subseqüentes do ataque. O aumento observado das latências era proporcional ao período de interrupção do estímulo. Este fato, segundo os autores, sugere que a resposta do animal a reintrodução do estímulo se dá como se este fosse parte de um novo experimento ao invés da continuação do teste iniciado antes da interrupção. Desta forma, foi sugerido que as latências das fases subseqüentes do ataque são determinadas somente a partir do início da primeira corrida, nunca antes. O segundo período crítico, associado a interrupções do estímulo sonoro à 15 e 20 segundos após o término do primeiro episódio de corrida e à 3 segundos após o início do segundo episódio de corrida, determinavam supressão da fase convulsiva do ataque. Este ponto do ataque parece relacionado a um ponto

de transição da fase procursiva para a fase convulsiva. A continuidade do estímulo neste ponto levaria à predominância de processos excitatórios no sistema gerador da crise (possivelmente ao nível do colículo inferior), determinando a ocorrência de uma atividade epileptiforme auto-sustentada caracterizada pelo comportamento convulsivo apresentado pelo animal. Por outro lado, a suspensão do estímulo neste ponto suprimiria a elevação da atividade neural do sistema mediada pela dominância de processos inibitórios. Em nossos experimentos, praticamente todos os experimentos de interrupção do estímulo sonoro, com exceção do grupo PRE, parecem ter afetado de maneira significativa a evolução dos ataques, principalmente os experimentos com 25 segundos de interrupção do estímulo. Este fato parece indicar que, além dos períodos críticos propostos por REID e COLLINS (1986), interrupções na apresentação do estímulo sonoro como no início e no término da primeira corrida procursiva teriam também reflexo no curso do ataque audiogênico. Estas interrupções do estímulo sonoro poderiam também afetar a excitabilidade do colículo inferior, provocando alterações no aspecto da crise. Entretanto, é importante reconhecer que torna-se difícil a comparação das latências observadas no experimento de Reid e Collins, com as obtidas no presente trabalho, devido ao fato destes autores terem utilizado animais diferentes (camundongos) altamente selecionados para a ocorrência de ataques audiogênicos. Nestes animais os parâmetros temporais das diferentes fases do ataque audiogênico (início e término dos episódios de corrida da fase pré-convulsiva e latência

da fase convulsiva) são expressos com grande homogeneidade, sendo que qualquer modificação de latência pode ser facilmente detectada. Além disto, cabe lembrar que estes experimentos foram realizados com *priming* monoaural, para obtenção de crises bifásicas e binaural para obtenção de crises monofásicas. Os animais utilizados no presente experimento, são resultado de um trabalho de seleção ainda recente para o aumento da susceptibilidade à crise audiogênica, portanto, apresentam grande variabilidade individual no período de ocorrência das diferentes fases associadas a crise. Desta forma, apenas alterações de caráter mais grosseiro na latência são detectadas com segurança estatística.

Os resultados obtidos nestes trabalho reforçam a teoria que considera o ataque audiogênico um fenômeno "gatilhado", que se manifesta a partir do momento em que o limiar de ataque é atingido (FULLER e SMITH, 1953; SABBATINI, 1981), ou seja, que a atividade neural do sistema relacionado ao ataque exceda um valor limiar de estabilidade. Desta forma, os diferentes tipos de corridas observados seriam reflexo de padrões de excitabilidade característicos do sistema neural, derivados de um mecanismo gerador comum. O modelo neural dos mecanismos envolvidos no ataque proposto por ZEPKA e SABBATINI (1991) parece proporcionar uma descrição bastante coerente do processo envolvido na origem e progressão do ataque audiogênico. Segundo o modelo proposto, apresentado de forma simplificada no diagrama da Figura 34, o desenvolvimento do fenômeno convulsivo audiogênico completo, isto é, um ataque apresentando episódios de

corrida procursiva seguidos de uma fase convulsiva, seria reflexo da interação de processos regulatórios excitatórios e inibitórios ocorrendo em três fases distintas e de maneira seqüencial. Na primeira fase, ou fase indutiva, a estimulação sonora intensa promoveria a interação de processos neurais excitatório e inibitórios, provavelmente a nível do colículo inferior, conforme já sugerido por FAINGOLD et al.(1986). O progresso destes processos poderia ser representado por funções sigmóides (com uma fase de crescimento exponencial seguida de uma fase de saturação) regidas por diferentes constantes de crescimento. O valor destas constantes, segundo sugerem os resultados obtidos no experimento 1 e os relatados por ALEXANDER e ALEXANDER (1976), ANTONITIS (1954), GATES e CHEN, (1975) e SCHREIBER (1977), seria proporcional a intensidade do estímulo aplicado, provavelmente apresentando um comportamento de acordo com uma função linear com um platô de saturação. O platô da função seria relacionado a um valor máximo da constante. Assim, a intensificação do estímulo reduziria as latências das fases do ataque até um determinado ponto, após o qual a elevação da intensidade do estímulo não modificaria mais as latências do ataque.

A elevação da excitabilidade, resultante do processo indutivo (Figura 34 - Fase indutiva), acima de um valor limiar, determinaria o aparecimento de um episódio de corrida circular procursiva, ou fase procursiva, que coincidiria com uma atividade colicular epileptiforme (McCOWN et al., 1984; PIERSON et al, 1989). A intensidade e duração

desta fase, caracterizada pelo tipo de corrida expressa (C1 ou C3), seria controlado, agora, por outros sistemas excitatórios e inibitórios provenientes de populações neurais localizadas provavelmente ao nível da formação reticular mesencefálica e pontina, substância nigra, e outros sistemas de menor influência regulatória sobre o ataque como a área septal, córtex, núcleo caudato e hipocampo (KESNER, 1966; REID, BOWLER e WEISS, 1983; COOLS et al, 1984; BROWNING, 1986). A atividade destes sistemas apresentaria, a exemplo do observado na fase indutiva, um crescimento sigmóide com coeficientes de crescimento particulares (Figura 34 - Fase Procursiva). A atividade produzida pelo somatório destes processos resultaria em um padrão de excitabilidade que, ultrapassando um novo valor limiar de estabilidade, conforme apresentado na Figura 34 (Fase Convulsiva), determinaria uma atividade neural epileptiforme generalizada, que caracterizaria a fase convulsiva do ataque (GALE, 1985; GALE, 1988; BROWNING, 1985). A esta fase se seguiria um fenômeno depressivo funcional da aferência auditiva (surdez funcional) determinando o decréscimo da atividade dos sistemas excitatórios e inibitórios envolvidos. A redução da atividade destes sistemas ocorreria segundo coeficientes de decaimento. Os coeficientes de decaimento dos processos inibitórios apresentariam caracteristicamente valores inferiores aos apresentados pelos processos excitatórios, determinando uma ação inibitória prolongada. Este retardo na queda da atividade inibitória produziria um estado neural refratário,

caracterizado por acinesia e arreflexia, observado na fase pós-ictal do ataque (PROKOPETZ, 1963). Por outro lado, considerando que a atividade neural na fase procursiva não excedesse o valor limiar convulsivo, uma dominância de processos inibitórios somados a um novo tipo de inibição do tipo "feedback", provavelmente de origem periférica,

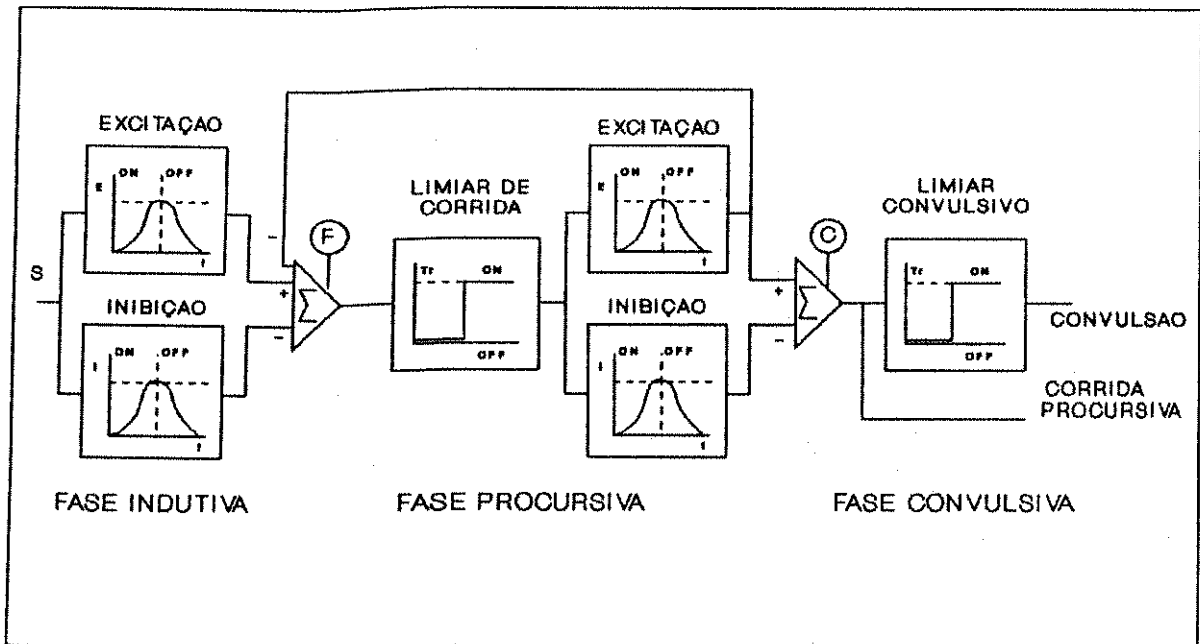


Figura 34 - Diagrama de bloco do modelo quantitativo da crise audiogênica, conforme ZEPKA e SABBATINI (1991). As abreviações correspondem a: (S) estímulo; (E) excitação; (I) inibição; (t) tempo; (Tr) limiar; (E) somatório; (F) feedback inibitório; (+) excitação; (-) inibição; (ON) e (OFF) correspondem respectivamente as fases de ativação e inativação dos processos. Para descrição do diagrama vide o texto.

representado por "F" no diagrama de bloco (Figura 34), poderia determinar a redução da atividade neural. A queda da atividade abaixo do limiar procursivo interromperia a ma-

nifestação da corrida. Se a interação dos processos excitatórios e inibitórios determinasse uma nova ascensão da atividade a valores que excedessem novamente o limiar procursivo, um novo episódio de corrida seria observado. Episódios de corrida sustentadas como C2, seriam produzidos em determinadas situações, onde o resultado da interação dos processos inibitórios e excitatórios resultaria em pontos estáveis de atividade acima do limiar procursivo neural (MILTON, LONGTIN, BEUTER, MACKEY e GLASS, 1989). Nestes pontos, devido a estabilidade atingida pelo sistema, a corrida se prolongaria até a completa estafa do animal ou até a interrupção do estímulo sonoro.

Embora o modelo descrito por ZEPKA e SABBATINI (1991) não considere o efeito de interrupções do estímulo ao longo do ataque, algumas suposições a este respeito podem ser postuladas baseado nos mecanismos neurais propostos pelo o modelo. Como demonstrado, ao menos nos experimentos com 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro, a interrupção do estímulo, principalmente no início da primeiro episódio de corrida (grupo CR1) e em seu término (grupo PEC), parecem, em muitos casos, suprimir ou retardar a manifestação das demais fases do ataque (caso o ataque se apresente de forma bifásica). Estes resultados parecem sugerir que o início da primeira corrida estaria associado a um limiar de excitabilidade para a manifestação do episódio de corrida, porém não estaria necessariamente relacionado ao aparecimento de uma atividade auto-sustentada do sistema gerador do ataque. Desta forma, a interrupção do estímulo

neste ponto, na maioria dos casos, suprimiria o crescimento dos processos excitatórios e inibitórios, determinando, como já comentado, seu decaimento. Com o decaimento da atividade do processo inibitório é, possivelmente, mais lento que a do excitatório, uma atividade inibitória predominante, porém transitória, ocorreria no sistema, resultando na extinção da corrida. Entretanto, em alguns casos, uma flutuação estocástica dos processos regulatórios, ou mesmo um pequena falha do experimentador retardando a suspensão do estímulo, poderia conduzir o sistema a um limiar crítico de atividade auto-sustentado, onde a corrida se manifestaria mesmo na ausência do estímulo. Um conceito de limiar de atividade auto-sustentada, semelhante ao aqui apresentado, é descrito em diversos modelos matemáticos de epilepsia, como nos trabalhos de THEODORIDIS, CHARLTON, NOWACK e JOHNSON (1980), ANNINOS e CYRULNIK (1977), KOKKINIDIS e ANNINOS (1985) e ANNINOS (1987).

A interrupção do estímulo no término da primeira corrida, parece exercer um efeito potencializador do processo inibitório, verificado especialmente nos experimentos de 25 segundos de interrupção do estímulo sonoro.

O final do episódio de corrida parece estar relacionado a supressão da atividade epileptiforme do colículo, resultante da ação dominante de processos inibitórios e do decréscimo da excitação. Este fenômeno parece determinar um breve período de refratariedade no sistema gerador do ataque. Os resultados sugerem que durante este período a aferência do estímulo sonoro não exerça influência signi-

ficativa sobre a atividade do sistema, pois a interrupção do estímulo sonoro de 15 segundos neste ponto parece não afetar a latência das demais fases do ataque. Entretanto, os resultados por nós obtidos, indicam que períodos maiores de interrupção, como de 25 segundos, alteram a estrutura temporal das fases subseqüentes do ataque. Interrupções deste tipo poderiam exceder o período refratário pós-corrida e alcançar pontos onde o sistema apresenta recuperação do processo excitatório. Nestes pontos, a ausência do estímulo retardaria a ascensão da excitabilidade até que o estímulo fosse reintroduzido. Estes dados sugerem a existência de um período de refratariedade ao estímulo sonoro após a primeira corrida procursiva de ataques bifásicos terminados em convulsão (C1C3) com duração igual ou menor a 15 segundos.

6. CONCLUSÕES

Os resultados e conclusões mais importantes foram:

1- A elevação da intensidade do estímulo sonoro parece causar aumento da severidade dos ataques observados. Além disto, pode ser constatada uma relação entre aumento na intensidade do estímulo e a diminuição na latência das corridas procursivas. Esta relação parece se dar de forma linear, atingindo principalmente ataques bifásicos terminados em convulsão.

2- A duração e a velocidade das corridas procursivas monofásicas e bifásicas terminadas em convulsão não sofreram variações detectáveis em relação ao aumento da intensidade do estímulo sonoro. Muito embora os resultados, por vezes, indiquem que as corrida monofásicas C3 se manifestem com menor duração e maior velocidade em relação as bifásicas. Estes resultados sugerem que o ataque audiogênico seja um fenômeno "gatilhado", que se manifesta a partir do momento em que o limiar de ataque seja atingido.

3- Interrupções de 25 segundos do estímulo sonoro são mais eficazes, em relação a interrupções de 15 segundos, em modificar a estrutura de um ataque audiogênico.

4- Interrupções do estímulo sonoro durante a manifestação de um ataque audiogênico, em períodos como o início e

término do primeiro episódio, e do início do segundo episódio de corrida procursiva, parecem causar redução na severidade dos ataques. A interrupção do estímulo sonoro nestes períodos, provavelmente associados a fases de ascensão e queda da atividade neural, provocam supressão ou retardo significativo dos elementos do ataque subsequente a suspensão do estímulo.

5- A velocidade e duração de cada episódio de corrida pré-convulsiva não sofreu alteração detectável em relação a interrupção do estímulo sonoro.

6- Os dados experimentais se adaptam bem a um modelo matemático, dinâmico e não-linear de convulsão audiogênica (ZEPKA e SABBATINI, 1991), onde pelo menos três fases distintas podem ser observadas: a) fase indutiva; b) fase procursiva ; c) fase convulsiva. Cada uma das fases regidas pela competição de processos excitatórios e inibitórios com diferentes constantes de tempo, limitados por um limiar de estabilidade, acima do qual apresentariam atividade auto-sustentada.

7. RESUMO

O presente trabalho investigou quantitativamente diversos parâmetros associados com a fase pré-convulsiva do ataque audiogênico no rato albino (variedade Wistar), utilizando um aparato semi-automático desenvolvido para o registro e análise dos episódios de corrida da fase procursiva. Foram estudados o efeito da intensidade de estimulação sonora sobre o ataque, assim como a ação de interrupções do estímulo sonoro em diferentes períodos da fase pré-convulsiva. Os resultados obtidos indicaram que a intensificação do estímulo sonoro esta relacionada com o aumento da severidade dos ataques, bem como com a redução nas latências para o aparecimento dos episódios de corrida da fase procursiva. Interrupções do estímulo sonoro (principalmente de interrupções de 25 segundos) durante a manifestação da fase procursiva determinaram a supressão ou o retardo significativo para o aparecimento dos elementos do ataque subsequentes a suspensão do estímulo. Um modelo teórico dos mecanismos neurais do ataque audiogênico é proposto baseado nos dados experimentais obtidos.

8. ABSTRACT

The present work investigated quantitatively several parameters associated with the pre-convulsive phase of audiogenic seizures in the albino rat (Wistar variety), using a microcomputer-based apparatus developed to record and analyse the running motor phase episodes. We studied the effect of the acoustic stimuli intensity in seizures and the action of the acoustic stimuli interruption in different periods of the pre-convulsive phase. The results obtained indicated that the acoustic stimulus intensification is related with the increase of the seizure severity and with decrease of running bout onset latency. Acoustic stimuli interruption (mainly 25 seconds interruptions) during an audiogenic seizure manifestation determine the suppression or significant onset delay of the seizure elements subsequent to the stimulus suspension. A theoretical model of the neural mechanisms of audiogenic seizures was proposed based in experimental data.

8. BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, G.J.; ALEXANDER, R.B., Linear relationship between stimulus intensity and audiogenic seizures in inbred mice. *Life Science*, 19:987-994, 1976.
- ANNINOS, P.A.; CYRULNIK., A neural net model for epilepsy. *Journal of Theoretical Biology*, 66:695-709, 1977.
- ANNINOS, P.A., A neural model theory leading to kindling effect of epilepsy. *International Journal of Neuroscience*, 36:177-198, 1987.
- ANTONITIS, J.J., Intensity of white noise and frequency of convulsive reactions in DBA/1 mice. *Science* 120:139-140, 1954.
- BEACH, F.A.; WEAVER, T., Noise-induced seizures in the rat and their modification by cerebral injury. *Journal of Comparative Neurology*, 79:379-392, 1943
- BECKSTEAD, R.M.; DOMESICK, V.B.; NAUTA, W.J.H., Efferent connection of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Research*, 175:191-217, 1979.
- BRODAL, A., *Neurological Anatomy in Relation to Clinical Medicine*. 3a. Ediç o. Oxford University Press, New York, 1981.
- BROWNING, R.A., Role of the brain-stem reticular formation in tonic-clonic seizures: lesion and pharmacological studies. *Federation Proceedings*, 44:2425-2431, 1985.

- BROWNING, R.A.; NELSON, Variation in the threshold and pattern of electroshock-induced seizures in rats depending on the site of stimulation. *Life Sciences*, 37:2205-2211, 1985
- BROWNING, R.A.; NELSON, D.K.; MOGHARREBAN, N.; JOBE, P.C.; LAIRD, H.E., Effect of the midbrain and pontine tegmental lesions of audiogenic seizures in genetically epilepsy-prone rats. *Epilepsia*, 26:175-183, 1985.
- BROWNING, R.A. Neuroanatomical localization of structures responsible for seizures in GEPR: lesion studies. *Life Sciences*, 39:857-867, 1986.
- BROWNING, R.A.; WANG, C.; FAINGOLD, C.L., Effect of norepinephrine depletion on audiogenic-like seizures elicited by microinfusion of an excitant amino acid into the inferior colliculus of normal rats. *Experimental Neurology*, 112:200-205, 1991.
- CASTELLION, A.W.; SWINYARD, E.A.; GOODMAN, L.S., Effect of maturation on the development and reproducibility of audiogenic and electroshock seizures in mice. *Experimental Neurology*, 13:206-217, 1965.
- CHANCE, M.R.A. A biological perspective on convulsions. In: *Psychophysiologie Neuropharmacologie et Biochimie de la Crise Audiogene*, edited by R.G. Busnel. Paris: Editions due C.N.R.S., 1963, p.15-50.
- CHEN, C-S., Rapid development of acoustic trauma-induced audiogenic seizure risk in 3 strains of seizure-resistant mice. *Experientia*, 36:1194-1196, 1980.
- CHIU, P.; BURNHAM, W.M. The effect of anticonvulsant drugs on the convulsions triggered by direct stimulation of the brain stem. *Neuropharmacology*, 21: 355-359, 1982

CHOCHOLOVA, L., The role of the cerebral cortex in audiogenic seizures in rat. *Physiologia Bohemoslovenica*, 11:452-458, 1962

COLLINS, R.L. Audiogenic seizures. In: *Experimental Models of Epilepsy: A Manual for the Laboratory Worker*, edited by D.P. Purpura; J.K. Penry; D. Tower; D.M. Woodbury; and R. Walker. New York: Raven, 1972, p.347-342.

CONSROE, P.A.; PICCHIONI, A; CHIN, L. Audiogenic seizure susceptible rats. *Federation Proceedings* 38:2411-2416, 1979.

COOLS, A.R; COOLEN, J.M.M.; SMIT, J.C.A.; ELLENBROEK, B.A., The striato-nigro-collicular pathways and explosive running behaviour: functional interaction between neostriatal dopamine and collicular GABA. *European Journal of Pharmacology*, 100:71-77, 1984.

DENIAU, J.M.; KITAI, S.T; DONOGHUE, J.P.; GROFOVA, I., Neuronal interactions in the substantia nigra pars reticulata through axon collaterals of the projection neurons. *Experimental Brain Research*, 47: 105-113, 1982.

DEPAULIS, A.; MARESCAUX, C.; LIU, Z.; VERGNES, M., The GABAergic nigro-collicular pathway is not involved in the inhibitory control of audiogenic seizures in the rat. *Neuroscience Letters*, 111:269-274, 1990.

DUGGAL, K.N.; BARASI, S., Investigation of the connection between the substantia nigra and the medullary reticular formation in the rat. *Neuroscience Letters*, 36: 237-242, 1983.

FAINGOLD, C.L.; GEHLBACH, G.; TRAVIS, M.A; CASPARY, D.M., Inferior colliculus neuronal response abnormalities in genetically epilepsy-prone rats: evidence for a deficit inhibition. *Life Science*, 39:869-878, 1986.

- FAINGOLD, C.L.; MILLAN, M.H.; BOERSMA, C.A. e MELDRUM, B.S.,
Excitant amino acids and audiogenic seizures in the
genetically epilepsy-prone rat. I. Afferent seizure
initiation pathway. *Experimental Neurology*, 99:678-
686, 1988.
- FINGER, F.W. Convulsive behaviour in the rat. *Psychological
Bulletin*, 44:201-248, 1947.
- FISHER, R.S. Animal models of the epilepsies. *Brain Research
Reviews*, 14: 245-278, 1989.
- FRYE, G.D.; McCOWN, T.J.; BREESE, G.R., Characterization of
susceptibility to audiogenic seizures in ethanol-
dependent rats after microinjection of GABA agonist
into the inferior colliculus, substantia nigra or
medial septum. *Journal of Pharmacology and
Experimental Therapeutics*, 227:663-670, 1983.
- FRYE, G.D.; McCOWN, T.J.; BREESE, G.R. e PETERSON, S.L.,
GABAergic modulation of inferior colliculus
excitability: role in the ethanol withdrawal
audiogenic seizures, *Journal of Pharmacology and
Experimental Therapeutics*, 237:478-484, 1986.
- FULLER, J.L.; SMITH, M.E., Kinetics of sound induced
convulsions in some inbred mouse strains. *American
Journal of Physiology*, 172:661-670, 1953.
- FULLER, J.L.; COLLINS, R.L., Temporal parameters of
sensitization for audiogenic seizures in SJL/J mice.
Developmental Psychobiology, 1:185-188, 1968a.
- FULLER, J.L.; COLLINS, R.L., Mice unilaterally sensitized for
audiogenic seizures. *Science*, 162:1295, 1968b.
- GALE, K., Mechanisms of seizure control mediated by Gama-
aminobutyric acid: role of the substantia nigra.
Federation Proceedings, 44:2414-2424, 1985.

- GALE, K., Progression and generalization of seizure discharge: anatomical and neurochemical substrates. *Epilepsia*, 29 (Supl. 2):S15-S34, 1988.
- GATES, G.R.; CHEN, C-S., Development of audiogenic seizure susceptibility in aged BALB/c mice. *Experimental Neurology* 47:360-363, 1975.
- GONZALES, L.P. e HETTINGER, M.K., Intranigral muscimol suppresses ethanol withdrawal seizures. *Brain Research*, 298:163-166, 1984.
- GARCIA-CAIRASCO, N.; SABBATINI, R.M.E., Role of the substantia nigra in audiogenic seizures: a neuroorthological analysis in the rat. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 16:171-183, 1983.
- HENRY, K.R.; THOMPSON, K.A.; BOWMAN, R.E., Frequency characteristics of acoustic priming of audiogenic seizures in mice. *Experimental Neurology* 31:402-407, 1971.
- HOCHBERG, Y.; TAMHANE, A.C., *Multiple Comparison Procedures*. John Wiley, New York, 1987.
- HUXTABLE, R.; LAIRD, H.E., The prolonged anticonvulsant action of taurine on genetically determined seizure susceptibility. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 5:215-221, 1978.
- IMPERATO, A. e DI CHIARA, G., Behavioral effects of GABA-agonists and antagonists infused in the mesencephalic reticular formation-deep layers of superior colliculus. *Brain Research*, 224:185-194, 1981.
- KESNER, R.P., Subcortical mechanisms of audiogenic seizures. *Experimental Neurology*. 15: 192-205, 1966.

KOKKINIDIS, M.; ANNINOS, P.A., Noisy neural nets exhibiting epileptic features. *Journal of Theoretical Biology*, 113:559-588, 1985

KRUSHINSKY, L.V., Etude physiologique des differents types de crises convulsives de l'épilepsie audiogène du rat. In: ***Psychophysiologie Neuropharmacologie et biochemie de la Crise Audiogene***, editado por R.G. BASNEL. Paris: Edic o da C.N.R.S. p.71-92, 1963.

LEHMANN, E.L.; D'ABRERA, H.J.M., *Nonparametrics: statistical methods based on ranks*. McGraw-Hill, New York, 1975.

LUDVIG, N.; MOSHE, S.L., Cyclic AMP derivatives injected into the inferior colliculus induced audiogenic seizure-like phenomena in normal rats. *Brain Research*, 437:193-196, 1987.

MERCIER, J., Modifications de la crise audiogène du rat albinos sous l'influence de divers agents pharmacodynamiques, In: ***Psychophysiologie Neuropharmacologie et biochemie de la Crise Audiogene***, editado por R.G. BASNEL. Paris: Edic o da C.N.R.S. p.331-392, 1963.

MCCOWN, T.J.; GREENWOOD, R.S.; FRYE G.D. e BREESE, G.R., Electrically elicited seizures from the inferior colliculus: a potential site for the genesis of epilepsy, *Experimental Neurology*, 86:527-542, 1984.

MCCOWN, T.J.; GREENWOOD, R.S. e BREESE, G.R., Inferior collicular interaction with limbic seizure activity, *Epilepsia*, 28:234-241, 1987.

MILLAN, M.H.; MELDRUM, B.S. e FAINGOLD, C.L., Induction of audiogenic seizure susceptibility by focal infusion of excitant amino acid or bicuculine into the inferior colliculus of normal rats. *Experimental Neurology*, 91:634-639, 1986

- MILLAN, M.H.; MELDRUM, B.S.; BOERSMA, C.A. e FAINGOLD, C.L.,
Excitant amino acids and audiogenic seizures in the
genetically epilepsy-prone rat.II.Efferent seizure
propagation pathway. *Experimental Neurology*, 99:687-
698, 1988.
- MILLER, R.G., *Simultaneous Statistical Inference*, 2a. Edição,
Springer Verlag, New York, 1981.
- MILTON, J.G.; LONGTIN, A.; BEUTER, A.; MACKEY, M.C.; GLASS, L.,
Complex dynamics and bifurcations in neurology.
Journal of Theoretical Biology, 138:337-363, 1989.
- NELLHAUS, G., Experimental epilepsy in rabbits: Observations
on a strain susceptible to audiogenic seizures. In:
*Psychophysiologie Neuropharmacologie et biochimie de
la Crise Audiogene*, editado por R.G. BASNEL. Paris:
Edition de la C.N.R.S. p.131-150, 1963.
- NIIJIMA, K.; YOSHIDA, M., Electrophysiological evidence for
branching nigral projections to pontine reticular
formation, superior colliculus and thalamus. *Brain
Research*, 239:279-282, 1982
- PIERSON, M.G.; SWANN, J.W., The sensitive period and optimum
dosage for induction of audiogenic seizure
susceptibility by kanamycin in the Wistar rat. *Hearing
Research*, 32:1-10, 1988.
- PIERSON, M.G.; SMITH, K.L. e SWANN, J.W., A slow NMDA-
mediated synaptic potential underlies seizures
originating from midbrain. *Brain Research*, 486:381-
386, 1989.
- PIERSON, M.G.; SWANN, J.W., Ontogenetic features of audiogenic
seizures susceptibility induced in immature rats by
noise. *Epilepsia*, 32:1-9, 1991.

- PROKOPETZ, I.M., Quelques particularités du développement de l'état de catalepsie obtenu chez les animaux à l'aide de l'action des excitants sonores. In: *Psychophysiologie Neuropharmacologie et Biochimie de la Crise Audiogene*, edited by R.G. Busnel. Paris: Editions due C.N.R.S., 1963, p.93-100.
- RALLS, K., Auditory sensitivity in mice: Peromyscus and Mus musculus. *Animal Behaviour*, 15:123-128, 1967.
- RAUSENBAKH, Y; KOROCHKIN, L.I., Radioautographic study of brain neurons in postnatal ontogenesis of rats with different genetically determined reactions of sound. *Sovietic Journal of Developmental Biology*, 3:38-45, 1972.
- REID, H.M.; BOWLER, K.J.; WEISS, C., Hippocampal lesions increase the severity of unilaterally induced audiogenic seizures and decrease their latency. *Experimental Neurology*, 81:240-244, 1983.
- REID, H.M.; COLLINS, R.L. Audiogenic seizures in mice: asymmetries of the preconvulsive running pattern and subsequent seizure. *Animal Learning & Behaviour*. 10(3):321- 324, 1982.
- REID, H.M.; COLLINS, R.L., Lateralized audiogenic seizure: motor asymmetries exhibited and the effects on interrupted stimulations. *Behavioral and Neural Biology*, 46:424-431, 1986.
- REID, H.M.; COLLINS, R.L., Independence of uniphasic and biphasic audiogenic seizure progressions in mice. *Behavioral and Neural Biology*, 52:417-421, 1989a.
- REID, H.M.; COLLINS, R.L., Monoaural and Binaural audiogenic seizures in mice. *Behavioral and Neural Biology*, 51:136-144, 1989b.

- SABBATINI, R.M.E., Um estudo quantitativo dos mecanismos fisiologicos e comportamentais das convulsões audiogênicas no rato albino. Laboratório de Neuroetologia. Depto. Fisiologia da Fac. Medicina de Ribeirão Preto (USP), 1981.
- SCHREIBER, R.A., Effects of stimulus intensity and stimulus duration during acoustic priming on audiogenic seizures in C57BL/6J mice. *Developmental Psychobiology*, 10:77-85, 1977.
- SCHREIBER, R.A., Stimulus frequency and audiogenic seizures in DBA/2J mice. *Behavior Genetics*, 4:341-347, 1978.
- SCHREIBER, R.A.; LEHMANN, A.; GINSBURG, B.E.; FULLER, J.L., Development of susceptibility to audiogenic seizures in DBA/2J and Rb mice: toward a systematic nomenclature of audiogenic seizures levels. *Behavior Genetics*, 10:537-544, 1980.
- SEYFRIED, T.N., Audiogenic seizures in mice. *Federation Proceedings*, 38:2399-2404, 1979
- SEYFRIED, T.N.; GLASER, G.H.; YU, R.K., Developmental analysis of regional brain growth and audiogenic seizures in mice. *Genetics*, 88:S90, 1978.
- SEYFRIED, T.N.; GLASER, G.H., A review of mouse mutants as genetic models of epilepsy. *Epilepsia*, 26:143-150, 1985
- SHAMMAH-LAGNADO, S.J.; RICARDO, J.A.; SAKAMOTO, N.T.M.N.; NEGRAO, N., Afferent connections of the mesencephalic reticular formation: a horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience*, 9:391-409, 1983.
- STERC, J., Experimental reflex epilepsy (audiogenic epilepsy). In: *Psychophysiologie Neuropharmacologie et biochimie de la Crise Audiogene*, editado por R.G. BASNEL. Paris: Edição da C.N.R.S. p.44-65, 1963.

- SWINYARD, E.A., Some physiological properties of audiogenic seizures in mice and their alteration by drugs. In: *Psychophysiologie Neuropharmacologie et biochemie de la Crise Audiogene*, editado por R.G. BASNEL. Paris: Editions de la C.N.R.S. p.405-428, 1963.
- THEORORIDIS, G.C.; CHARLTON, J.D.; NOWACK, W.J.; JOHNSON, R.N., Analysis of epileptic activity in a system of interconnected neurons: a biological criticality theory. *Annals of Biomedical Engineering*, 8:41-56, 1980.
- THOMPSON, J.L; HOLMES, G., Effect of aging on seizures in the genetically epilepsy-prone rat. *Epilepsia*, 30:652, 1989.
- VICARI, E.M., Audiogenic seizures and the A/Jax mouse. *Journal of Psychology*, 43:111-116, 1957.
- WADA, J.A.; TERAOKA, A.; WHITE, B.; JUNG, E. The susceptibility to auditory stimuli of animals treated with methionine sulfoximine., *Experimental Neurology*, 28: 326-332, 1970.
- WARD, R., Recovery of susceptibility after audiogenic seizure, *Nature New Biology*, 233:56-57, 1971.
- WARD, R.; COLLINS, R.L., Asymmetric audiogenic seizures in mice: A possible analogue for focal epilepsy. *Brain Research*, 31:207-210, 1971.
- WEINER, H.M.; MORGAN, C.T., Effects of cortical lesions upon audiogenic seizures. *Journal of Comparative Psychology*, 38:199-208, 1945.
- WILLOT, J.F., Protection from lethal audiogenic seizures in mice by physical restraint of movement. *Experimental Neurology*, 43:359-368, 1974.

WILLOT, J.F.; HENRY, K.R.; GEORGE, F., Noise-induced hearing loss, auditory evoked potential, and protection from audiogenic seizures in mice. *Experimental Neurology*, 46:542-553, 1975.

WILLOT, J.F.; URBAN, G.P., Response properties of neurons in the nuclei of the mouse inferior colliculus. *Journal of Comparative Physiology*, 127:175-184, 1978

WILLOT, J.F.; LU, S.M., Midbrain pathways of audiogenic seizures in DBA/2 mice. *Experimental Neurology*, 70:288-299, 1980.

YAMASHITA, J.; HIRATA, Y., Running fits induced by direct administration of semicarbazide into the SC of the mouse, *Neuroscience Letters*, 8:89-92, 1978

ZEPKA, R.F. e SABBATINI, R.M.E., Computer simulation of a quantitative model for reflex epilepsy. In: DVOROK, I.; HOLDER, A.V. (Eds), *Mathematical Approaches to Brain Functioning Diagnostics*. (Proceedings in Non-Linear Science) Manchester: Manchester University Press, p.249-256, 1991.

Apêndice

Anexo 1 - Listagem do programa de registro e análise dos episódios de corrida da fase pré-convulsiva do ataque audiogênico.

```

1 REM -----
2 REM SISTEMA DE AUXILIO A ANALISE DA EPILEPSIA AUDIOGENICA
3 REM          ROBERTO F. ZEPKA - 1990
4 REM          Computador:MSX e compatíveis
5 REM          Linguagem: MSX-Basic
6 REM -----
10 CLEAR 1000
20 DIM A(151),B(25),C$(40),MT%(120,20),D$(400),G(20)
30 CLS:KEYOFF
40 ON STOP GOSUB 1220
50 GOSUB 3980:Z=0
60 REM *****
70 REM          MENU PRINCIPAL
80 REM *****
90 SCREEN 2
100 LINE (1,1)-(270,180),15,B
110 LINE(1,45)-(270,45)
120 LINE (60,60)-(176,75),15,B
130 PRESET(50,5):PRINT#1,"SISTEMA DE AUXILIO"
140 PRESET(65,15):PRINT#1,"A ANALISE DA"
150 PRESET(30,25):PRINT#1," EPILEPSIA AUDIOGENICA"
160 PRESET(95,35):PRINT#1,"-1990-"
170 PRESET(65,65):PRINT#1,"MENU PRINCIPAL"
180 PRESET(10,90):PRINT#1,"1)INICIAR TESTE"
190 PRESET(10,110):PRINT#1,"2)CARREGAR TESTE"
200 PRESET(10,130):PRINT#1,"3)ATUALIZAR DADOS DO ANIMAL"
210 PRESET(10,150):PRINT#1,"4)FIM"
220 PRESET(95,170):PRINT#1,"SUA OPCA0:"
230 Z=VAL(INKEY$)
240 ON Z GOTO 3990,3880,2540,440
250 GOTO 230
260 REM *****
270 REM          MENU SECUNDARIO
280 REM *****
290 SCREEN2:STOPOFF
300 LINE (1,1)-(270,180),15,B
310 LINE (60,20)-(176,35),15,B
320 PRESET(100,25):PRINT#1,"MENU"
330 PRESET(5,65):PRINT#1,"1)TABELA DE ATIVIDADE MOTORA"
340 PRESET(5,80):PRINT#1,"2)TABELA DE COMPORTAMENTOS"
350 PRESET(5,95):PRINT#1,"3)GRAFICO DA ATIVIDADE MOTORA"
360 PRESET(5,110):PRINT#1,"4)CURVA MOTORA"
370 PRESET(5,125):PRINT#1,"5)MENU PRINCIPAL"
380 PRESET(5,140):PRINT#1,"6)DADOS DO ANIMAL"
390 PRESET(5,155):PRINT#1,"7)GRAVA DADOS"
400 PRESET(95,170):PRINT#1,"SUA OPCA0:"
410 Z=VAL(INKEY$)
420 ON Z GOTO 2240,3370,1570,1840,10,2540,3720

```

```

430 GOTO 410
440 END
450 REM *****
460 REM          REGISTRA DADOS DO ROTAMETRO
470 REM *****
480 ON INTERVAL=60 GOSUB 1160
490 ON STRIG GOSUB,1190
500 REM *****
510 REM          TELA DO EXPERIMENTO
520 REM *****
530 J=1
540 RESTORE 1040
550 FOR I=1 TO 40:READ C$(I):NEXT
560 GOSUB 3010
570 LOCATE 28,3:PRINT"SEGUNDOS":LOCATE 31,5:PRINT"00"
580 LOCATE 27,8:PRINT"ROTOMETRIA":LOCATE 31,10:PRINT"00"
590 LOCATE 24,13:PRINT"_____|"
600 LOCATE 29,13:PRINT"ANIMAL"
610 LOCATE 25,15:PRINT"Nº:";N$(1)
620 LOCATE 25,17:PRINT"DATA:";N$(6)
630 LOCATE 25,19:PRINT"HORA:";N$(7)
640 LOCATE 2,18:PRINT"<ENTER> Para Iniciar"
650 IF INKEY$="" THEN 650
660 INTERVALON:MOTOR ON:STRIG(1)ON
670 STOP ON
680 LOCATE 2,18:PRINT" <STOP> Para Parar "
690 H=240:B=169:C=170
700 OUT C,(INP(C)ANDH)OR3
710 IF K=135 THEN 1220
720 I=INP(B)
730 IF(IAND1)=0 THEN MT%(K,1)=1
740 IF(IAND2)=0 THEN MT%(K,2)=2
750 IF(IAND4)=0 THEN MT%(K,3)=3
760 IF(IAND8)=0 THEN MT%(K,4)=4
770 IF(IAND16)=0 THEN MT%(K,5)=5
780 IF(IAND32)=0 THEN MT%(K,6)=6
790 IF(IAND64)=0 THEN MT%(K,7)=7
800 IF(IAND128)=0 THEN MT%(K,8)=8
810 OUT C,(INP(C)ANDH)OR4
820 I=INP(B)
830 IF(IAND1)=0 THEN MT%(K,9)=9
840 IF(IAND2)=0 THEN MT%(K,10)=10
850 IF(IAND4)=0 THEN MT%(K,11)=11
860 IF(IAND8)=0 THEN MT%(K,12)=12
870 IF(IAND16)=0 THEN MT%(K,13)=13
880 IF(IAND32)=0 THEN MT%(K,14)=14
890 IF(IAND64)=0 THEN MT%(K,15)=15
900 IF(IAND128)=0 THEN MT%(K,16)=16
910 OUT C,(INP(C)ANDH)OR5
920 I=INP(B)
930 IF(IAND1)=0 THEN MT%(K,17)=17
940 IF(IAND2)=0 THEN MT%(K,18)=18
950 IF(IAND4)=0 THEN MT%(K,19)=19
960 IF(IAND8)=0 THEN MT%(K,20)=20

```

```

970 IF INKEY$="I" THEN GOSUB 1060
980 IF INKEY$="P" THEN STOP
990 IF Z=0 THEN 700
1000 IF Z=1 THEN 1020
1010 GOTO 700
1020 IF K=5 AND KN=0 THEN GOSUB 1060:K=0
1030 GOTO 700
1040 DATA CLC,CLS,ER,EXC,FR,GR,JP,MT,PIM,RI,RU,SCR,SC,SN,TC,
      TCV,TR,VI,YA,WA,C,D,E,F,G,H,I,J,K,L,M,N,O,P,Q,R,S,T,U,V
1050 INTERVALOFF:STRIG(1)OFF
1060 NT=K
1070 MOTOR OFF
1080 IF ABS(NT-K)<15 THEN 1080
1090 KN=1
1100 MOTOR ON
1110 RETURN
1120 LOCATE 2,18:PRINT" <SPC> Para Continuar"
1130 IF INKEY$<>CHR$(32) THEN 1130
1140 INTERVALOFF:STRIG(1)OFF:MOTOR OFF
1150 GOTO 1230
1160 K=K+1:LOCATE 30,5:PRINT K
1170 J=J+1
1180 RETURN
1190 A(J)=A(J)+1:A1=A1+1
1200 LOCATE 30,10:PRINTUSING"###":A1
1210 RETURN
1220 INTERVALOFF:STRIG(1)OFF:MOTOR OFF
1230 LOCATE 2,18:PRINT"      Aguarde..."
1240 LM=VAL(N$(8))
1250 FOR I=1 TO 120
1260 IF A(I)+A(I+1)>=LM AND A(I)<>0 AND A(I+1)<>0 THEN GOSUB
1430:TF(Z)=I+1
1270 NEXT I
1280 S=1
1290 FOR I=1 TO 20
1300 D$(S)=C$(I)
1310 FOR V=1 TO 120
1320 IF MT%(V,I)=I THEN GOSUB 1370:D$(S)=STR$(V)
1330 NEXT V
1340 S=S+1
1350 NEXT I
1360 GOTO 1480
1370 G(I)=G(I)+1
1380 IF MT%(V-1,I)=0 THEN S=S+1:D$(S)=STR$(V):S=S+1
1390 RETURN
1400 REM *****
1410 REM      CALCULA INICIO,FIM E AREA GRAFICO-II
1420 REM *****
1430 IF P<>I-1 THEN U=U+1:TI(U)=I
1440 ARA(U)=A(I)+ARA(U)
1450 P=I
1460 RETURN
1470 REM *****
1480 REM      GRAFICO-I

```

```

1490 REM *****
1500 G=1
1510 FOR I=1 TO 120
1520 B(G)=B(G)+A(I)
1530 IF I/5=INT(I/5) THEN G=G+1
1540 NEXT I
1550 ERASE MT%
1560 GOTO 290
1570 SCREEN2:LINE (5,5)-(240,175),15,B
1580 PRESET(40,10):PRINT#1,"FREQUENCIA DE REGISTROS"
1590 PRESET(50,160):PRINT#1,"PERIODO DE 5 SEGUNDOS"
1600 PRESET(85,21):PRINT#1,"ANIMAL:";N$(1)
1610 PRESET(20,25):PRINT#1,"30"
1620 PRESET(20,85):PRINT#1,"15"
1630 PRESET(28,145):PRINT#1,"0"
1640 LINE(40,30)-(40,150)
1650 LINE(40,150)-(232,150)
1660 FOR I=40 TO 232 STEP 8
1670 LINE (I,150)-(I,152)
1680 NEXT I
1690 FOR I=30 TO 150 STEP 12
1700 LINE (37,I)-(40,I)
1710 NEXT I
1720 K=0
1730 FOR X=40 TO 226 STEP 8
1740 K=K+1
1750 Y=180-((B(K)*4)+30)
1760 LINE(X,Y)-(X+8,150),15,B
1770 LINE(X+1,Y+1)-(X+7,149),8,BF
1780 NEXT X
1790 IF INKEY$="" THEN 1790
1800 GOTO 290
1810 REM *****
1820 REM          GRAFICO-II
1830 REM *****
1840 U=0:CLS
1850 SCREEN 2
1860 U=U+1
1870 LINE (5,15)-(150,175),15,B
1880 LINE(155,15)-(280,175),15,B
1890 LINE(155,88)-(180,88),15
1900 LINE(231,88)-(280,88),15
1910 PRESET(20,5):PRINT#1,"ATIVIDADE MOTORA PROCURSIVA"
1920 PRESET(50,160):PRINT#1,"SEGUNDOS"
1930 PRESET(185,20):PRINT#1,"ANIMAL"
1940 PRESET(160,40):PRINT#1,"Nº:";N$(1)
1950 PRESET(160,50):PRINT#1,"LIMIAR:";N$(8)
1960 PRESET(160,60):PRINT#1,"ESTIM:";N$(9)
1970 PRESET(160,70):PRINT#1,"HORA:";N$(7)
1980 PRESET(180,87):PRINT#1,"CURVA "
1990 PRESET(160,110):PRINT#1,"Nº:";U
2000 PRESET(160,120):PRINT#1,"INICIO:";TI(U)
2010 PRESET(160,130):PRINT#1,"FIM:";TF(U)
2020 PRESET(160,140):PRINT#1,"TOTAL";TF(U)-TI(U)

```

```

2030 PRESET(160,150):PRINT#1,"AREA=";ARA(U)
2040 PRESET(7,25):PRINT#1,"10"
2050 PRESET(14,85):PRINT#1,"5"
2060 PRESET(14,145):PRINT#1,"0"
2070 LINE(25,30)-(25,150)
2080 LINE(25,150)-(145,150)
2090 FOR I=25 TO 145 STEP 7
2100 LINE (I,150)-(I,152)
2110 NEXT I
2120 FOR I=30 TO 150 STEP 12
2130 LINE (23,I)-(25,I)
2140 NEXT I
2150 K=TI(U)
2160 FOR X=25 TO 145 STEP 7
2170 K=K+1
2180 YN=150-(A(K)*12)
2190 LINE(X,YN)-(X+7,150),15,B
2200 NEXT X
2210 IF INKEY$="" THEN 2210
2220 IF TI(U+1)<>0 THEN 1850
2230 GOTO 290
2240 REM *****
2250 REM          TABELA COMPLETA
2260 REM *****
2270 N=1
2280 GOSUB 2460
2290 FOR N=1 TO 150
2300 IF N=61 THEN GOSUB 2450
2310 IF N=121 THEN GOSUB 2450
2320 LL=N
2330 IF LL>60 THEN LL=LL-60
2340 IF N>120 THEN LL=N-120
2350 IF LL=16 THEN X1=72:X3=102:YY=20
2360 IF LL=31 THEN X1=137:X3=167:YY=20
2370 IF LL=46 THEN X1=202:X3=232:YY=20
2380 YY=YY+10
2390 IF N=NT THEN GOSUB 2510
2400 PRESET(X1,YY):PRINT#1,"#":PRESET(X1+1,YY):PRINT#1,N:
    PRESET(X3,YY):PRINT#1,A(N)
2410 IF N=NT THEN GOSUB 2520
2420 NEXT N
2430 IF INKEY$="" THEN 2430
2440 GOTO 290
2450 IF INKEY$="" THEN 2450
2460 CLS:X1=7:X3=37:YY=20
2470 SCREEN 2
2480 LINE (1,5)-(270,180),15,B
2490 PSET(7,10):PRINT#1,"SEG/REG":PSET(72,10):PRINT#1,"SEG/
    REG":PSET(137,10):PRINT#1,"SEG/REG":PSET(202,10):PRINT#
    1,"SEG/REG"
2500 RETURN
2510 COLOR 1:RETURN
2520 COLOR 15,4,4:RETURN
2530 END

```

```

2540 REM *****
2550 REM          DADOS DO ANIMAL
2560 REM *****
2570 SCREEN 0
2580 PRINT"
2590 PRINT"  Dados do Animal  "
2600 PRINT"
2610 RESTORE 2990
2620 FOR I=1 TO 4
2630 PRINT"
2640 READ A$:LOCATE2,(I*2)+1:PRINTA$
2650 PRINT"
2660 NEXT I
2670 PRINT"  Sexo  "
2680 PRINT"
2690 LOCATE 20,0:PRINT"
2700 LOCATE 20,1:PRINT"  Experimento  "
2710 LOCATE 20,2:PRINT"
2720 RESTORE 3000
2730 FOR I=1 TO 4
2740 GR=(I*2)+1
2750 LOCATE 20,GR:PRINT"
2760 READ A$:LOCATE22,GR:PRINTA$
2770 LOCATE 20,GR+1:PRINT"
2780 NEXT I
2790 LOCATE 20,11:PRINT"  Obser.  "
2800 LOCATE 20,12: PRINT "
2810 F1=11:F2=0
2820 FOR I=1 TO 10
2830 F2=F2+1
2840 IF F2=6 THEN F1=30: F2=1
2850 LOCATE F1,(F2*2)+1:PRINTLEFT$(N$(I),8);
2860 NEXT I
2870 F1=11:F2=0
2880 FOR I=1 TO 10
2890 F2=F2+1
2900 LOCATE 2,18:PRINTSTRING$(26,32)
2910 LOCATE 17,18:PRINTN$(I)
2920 LOCATE 2,18:LINE INPUT"Escreva o Dado:";N$(I)
2930 IF F2=6 THEN F1=30:F2=1
2940 LOCATE F1,(F2*2)+1:PRINTLEFT$(N$(I),10);
2950 NEXT I
2960 LOCATE 2,18:PRINT"<ENTER> Para Continuar"
2970 IF INKEY$="" THEN 2970
2980 IF Z=6 THEN GOTO 260 ELSE GOTO 90
2990 DATA Código,Gaiola,Nº Exp,Nascido
3000 DATA Data,Hora,Limiar,Teste
3010 R2=10:R3=21
3020 SCREEN0:CLS
3030 LOCATE 5,1:PRINT"COMPORTAMENTOS"
3040 LOCATE 1,2:PRINT"
3050 LOCATE 1,3:PRINT"  Comp  Cod  Comp  Cod  "
3060 LOCATE 1,4:PRINT"
3070 R1=4

```

```

3080 FOR I=1 TO 10
3090 R1=R1+1
3100 LOCATE 1,R1:PRINT"| ":LOCATE 3,R1:PRINTC$(I):LOCATE
      8,R1:PRINT"| ":LOCATE R2,R1:PRINTC$(I+20):LOCATE 12,R1:
      PRINT"| "
3110 LOCATE 14,R1:PRINTC$(I+10):LOCATE 19,R1:PRINT"| ":LOCATE
      R3,R1:PRINTC$(I+30):LOCATE 23,R1:PRINT"| "
3120 NEXT
3130 LOCATE 1,15:PRINT"_____ "
3140 LOCATE 24,2:PRINT"_____ "
3150 FOR I=1 TO 18
3160 LOCATE 24,I+2:PRINT"| ":LOCATE38,I+2:PRINT"| "
3170 NEXT
3180 LOCATE 24,20:PRINT"_____ "
3190 LOCATE 1,16:PRINT"_____ "
3200 FOR I=17 TO 19
3210 LOCATE1,I:PRINT"| ":LOCATE 23,I:PRINT"| "
3220 NEXT
3230 LOCATE 1,20:PRINT"_____ "
3240 RETURN
3250 S=1
3260 FOR I=1 TO 20
3270 D$(S)=C$(I)
3280 S=S+1
3290 FOR V=1 TO 120
3300 IF MT%(V,I)=I THEN GOSUB 3330:D$(R)=V
3310 NEXT V
3320 NEXT I
3330 G(I)=G(I)+1
3340 IF MT%(V-1,I)=0 THEN S=S+1:D$(S)=V:S=S+1
3350 RETURN
3360 END
3370 REM *****
3380 REM          COMPORTAMENTOS
3390 REM *****
3400 J=0
3410 FOR I=21 TO 40
3420 J=J+1
3430 C$(I)=STR$(G(J))
3440 NEXT
3450 R2=9:R3=20
3460 GOSUB 3020
3470 LOCATE 24,13:PRINT"| "
3480 LOCATE 2,17:PRINT"[1] Ocorncia | "
3490 LOCATE 2,19:PRINT"[2] Volta ao Menu "
3500 A=VAL(INKEY$)
3510 ON A GOTO 3530,280
3520 GOTO 3500
3530 FOR I=3 TO 15:LOCATE 26,I:PRINT"          ":NEXT
3540 LOCATE 2,17:PRINT"  Selezione o Item":LOCATE 2,19:
      PRINT"          ?";
3550 S$=""
3560 F$=INKEY$
3570 IF F$="" THEN 3560

```

```

3580 F=ASC(F$)
3590 IF F=13 THEN 3630
3600 S$=S$+F$
3610 PRINTF$;
3620 GOTO 3560
3630 FOR I=1 TO S
3640 IF D$(I)=S$ THEN I1=5:GOTO 3660
3650 NEXT
3660 LOCATE 30,3:PRINTD$(I)
3670 IF VAL(D$(I+1))/2 >0 THEN I=I+1 ELSE 3710
3680 LOCATE 26,I1:PRINT D$(I);" - ":I=I+1:LOCATE 32,I1:
PRINTD$(I)
3690 I1=I1+1
3700 GOTO 3670
3710 GOTO 3480
3720 REM *****
3730 REM          GRAVA  DADOS
3740 REM *****
3750 CLOSE#1:SCREEN0
3760 LOCATE 4,4:LINEINPUT"Nome do Arquivo?";F$
3770 IF LEFT$(F$,1)<"A" OR LEFT$(F$,1)>"Z" THEN 3760
3780 LOCATE 1,6:PRINT"Gravando..."
3790 OPEN F$ FOR OUTPUT AS #1
3800 PRINT#1,J,NT
3810 FOR K=1 TO J:PRINT#1,A(K):NEXT K
3820 FOR I=1 TO 10:PRINT#1,N$(I):NEXT
3830 CLOSE #1
3840 GOTO 50
3850 REM *****
3860 REM          CARREGA DADOS
3870 REM *****
3880 CLOSE#1:SCREEN0
3890 CLS:LOCATE 4,4:LINE INPUT"Nome do Arquivo?";F$
3900 IF LEFT$(F$,1)<"A" OR LEFT$(F$,1)>"Z" THEN 3890
3910 LOCATE 1,6:PRINT"Carregando..."
3920 OPEN F$ FOR INPUT AS #1
3930 INPUT#1,J,NT
3940 FOR K=1 TO J:INPUT#1,A(K):NEXT
3950 FOR I=1 TO 10:INPUT#1,N$(I):NEXT
3960 CLOSE #1:GOSUB 3980:GOTO 1230
3970 END
3980 OPEN"GRP:"FOROUTPUTAS#1:RETURN
3990 Z=0
4000 LINE(60,60)-(176,155),13,BF
4010 LINE (65,65)-(170,145),1,B
4020 COLOR 1
4030 PRESET(75,90):PRINT#1,"1)TESTE CTRL"
4040 PRESET(75,110):PRINT#1,"2)TESTE PRE"
4050 PRESET(75,130):PRINT#1,"3)OUTRO"
4070 COLOR 15,4,4
4080 Z=VAL(INKEY$)
4090 ON Z GOTO 480,480,480,480
4100 GOTO 4080

```