



# EFEITOS DO TRATAMENTO PERINATAL COM LÍLIO NA MEMÓRIA E APRENDIZADO DE RATOS<sup>1</sup>

## *PERINATAL LITHIUM TREATMENT EFFECTS ON LEARNING AND MEMORY IN RATS*

Márcia Cristina GUILHERME<sup>1,2</sup>  
Ana Augusta VARRIANO<sup>2</sup>  
Vilma Aparecida da SILVA<sup>3</sup>  
Nancy Airoidi TEIXEIRA<sup>4</sup>

### RESUMO

#### **Introdução**

O lítio (Li<sup>+</sup>) é a terapia mais adequada na profilaxia de pacientes bipolares na gravidez e puerpério. Contudo, seu impacto sobre o comportamento nos descendentes tem sido pouco estudado.

#### **Objetivos**

Avaliar as possíveis alterações no desenvolvimento cognitivo dos filhotes fêmeas, após tratamento perinatal com lítio em doses profiláticas.

<sup>1</sup> Artigo elaborado a partir da dissertação de mestrado de autoria de M.M. GUILHERME "Estudo do comportamento prole de ratas tratadas com lítio". Área de concentração Farmacologia, Universidade Estadual de Campinas, 2003.

<sup>2</sup> Mestrandas, Departamento de Farmacologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas

<sup>3</sup> Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense. Rua Hernani de Melo, 101, 24210-130, Niterói, RJ, Brasil. *E-mail*: vilma@urbi.com.br

<sup>4</sup> Departamento de Farmacologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. Caixa Postal 6111, 13084-971, Campinas, SP, Brasil. Correspondência para/ *Correspondence to*: N.A TEIXEIRA. *E-mail*: airoidi@unicamp.br

## Métodos

Ratas Wistar foram tratadas com solução de LiCl ou NaCl 10mM/L, *ad libitum*, como única fonte de bebida durante a gravidez e lactação. Após o nascimento, foi aplicada a adoção cruzada dos filhotes, formando os grupos experimentais (10 ninhadas cada): 1) Controle - salina durante os períodos pré e pós-natal; 2) LiPós - Li<sup>+</sup> durante o período pós-natal; 3) LiPré - Li<sup>+</sup> durante o período pré-natal; 4) Li - Li<sup>+</sup> durante os períodos pré e pós-natal. Os filhotes (um por ninhada) foram submetidos aos seguintes testes de aprendizado e memória em idade adulta: teste de fuga (TF), esquiva ativa sinalizada (EAS) e esquiva passiva (EP). Utilizou-se o teste de campo-aberto (CA) para avaliação da atividade exploratória.

## Resultados

Foram encontradas diferenças significantes apenas na resposta de EP no grupo Li (Li=24,4% x Controle=70,1%, Anova & Student - Newman-Keuls; \*\*p<0,01).

## Conclusão

Os resultados sugerem que a exposição ao lítio durante o desenvolvimento pode ter efeitos duradouros sobre o aprendizado, tais como na aquisição e atenção. Foi necessária a exposição durante a gestação e lactação para a produção de efeitos detectáveis em ratos adultos. São necessários posteriores estudos para investigar os circuitos neurais afetados pela exposição perinatal ao lítio.

**Termos de indexação:** lítio, tratamento perinatal, comportamento, memória, aprendizado, ratos, gravidez.

## ABSTRACT

### **Introduction**

*Lithium salts (Li<sup>+</sup>) have been proven to be effective in prophylaxis of bipolar disorder patients during pregnancy and puerperium. However, few works have evaluated its impact on descendant behavior and the possibility of long-lasting behavioral change.*

### **Objectives**

*Evaluate possible alterations on cognitive development of female descendants, after perinatal lithium treatment in prophylactic dosage.*

### **Methods**

*Female Wistar rats were treated with lithium or sodium chloride 10mM/L, ad libitum, as the only source of fluid during the prenatal and postnatal (lactating) periods. Following birth, pups were cross-fostered to form four experimental groups (N = 10 litters each): 1) Control - saline during prenatal and postnatal periods; 2) LiPos - Li<sup>+</sup> during postnatal period; 3) LiPre - Li<sup>+</sup> during prenatal period;*

*d) Li – Li<sup>+</sup> during prenatal and postnatal periods. One female offspring from each litter was submitted to the following learning and memory tests at adult age: escape (E), two-way active avoidance (AA) and passive avoidance (PA) responses. The open-field test was used to evaluate exploratory activity.*

### **Results**

*A difference was shown only in the PA response in the Li group (Li = 24.4% x Control = 70.1%, Anova & Student-Newman-Keuls; \*\* $p < 0.01$ ). No other significant differences were found.*

### **Conclusion**

*Data suggest that lithium exposure during development may have long-lasting effects on learning functions, such as acquisition and attention. Exposure during gestation and lactation was necessary to produce detectable effects in adult female rats. Subsequent studies are important to investigate the neural mechanisms affected by perinatal lithium exposure.*

**Index terms:** *lithium, perinatal treatment, behavior, learning, memory, rats, pregnancy.*

## **INTRODUÇÃO**

Atualmente o lítio (Li<sup>+</sup>) é a terapia disponível mais adequada para pacientes bipolares na gravidez e no puerpério. As terapias alternativas tais como os agentes anticonvulsivantes clássicos: carbamazepina e valproato são reconhecidamente teratogênicos e os novos: lamotrigina e gabapentina, isoladamente, não têm eficácia comprovada nesta desordem.

O uso de lítio em concentrações terapêuticas, na gestação, pode estar associado ao bócio neonatal, depressão do Sistema Nervoso Central (SNC), hipotonia e sopro cardíaco. Contudo, todas essas condições são revertidas com o tempo<sup>1</sup>. Estudos epidemiológicos, bem controlados, indicam que o risco de malformação cardiovascular fetal (anomalia de Ebstein) é muito menor que o que se pensava a princípio<sup>2</sup>, sendo este defeito detectável em útero, por meio de ultra-sonografia e, com frequência, é passível de correção cirúrgica. No leite, o lítio tem sido encontrado em concentração entre 10% e 50% da concentração sérica materna<sup>3</sup>. Os benefícios físicos e emocionais advindos da amamentação são notoriamente conhecidos para o recém nascido e

para a mãe. Porém, em se tratando de mãe sob terapia a base de lítio, o aleitamento materno passa a ser um período de exposição adicional do lactente ao lítio, não sendo recomendado. Esta exposição pode implicar em toxicidade neonatal, visualizada por letargia, hipotonia, taquicardia, cianose, e tremor crônico<sup>1</sup>. A simples suspensão da amamentação reduz os níveis elevados de lítio no neonato e reverte este quadro rapidamente. Contudo, são desconhecidas as conseqüências comportamentais e neurotóxicas a longo prazo, ainda que decorrente apenas da exposição intra-uterina.

Ao se pesar o risco *versus* o benefício do uso de lítio na gestação, é importante avaliar os prejuízos do distúrbio maníaco-depressivo não tratado e as conseqüências do tratamento sobre o feto. Cabe ressaltar a importância dos estudos referentes a possíveis alterações fisiológicas e comportamentais desta droga sobre os descendentes. O conhecimento que estes estudos adicionam permite avaliar de forma mais abrangente os riscos inerentes ao tratamento materno. Uma primeira alternativa para evitar os efeitos deletérios do lítio sobre o feto, seria considerar medidas conservadoras, como a de adiar a

intervenção medicamentosa até que os sintomas apareçam, ou fazer uso de eletroconvulsoterapia (ECT). Outra alternativa seria a suspensão da administração mediante a confirmação da gravidez, com possibilidade de reintrodução no final da gestação. No entanto, a interrupção, principalmente de forma abrupta, pode expor a paciente a episódios maníaco-depressivos; dados recentes sugerem risco de recorrência em cerca de 50% das pacientes bipolares grávidas, após seis meses de retirada do lítio. O desafio na clínica encontra-se em mulheres com transtorno bipolar muito grave, com ciclagem rápida e episódios mistos, aos quais medidas conservadoras são inviáveis e a interrupção da terapia com lítio inapropriada. Nestes casos, as consequências negativas do transtorno afetivo bipolar poderiam exceder à toxicidade nos descendentes, uma vez que as vidas da mãe e do feto poderiam estar comprometidas com aumento do risco de suicídio. Por esse motivo, estas pacientes, muitas vezes, são orientadas a continuar o tratamento durante o período gestacional. Esta orientação vem de encontro com estudos epidemiológicos recentes, os quais indicam que, a maioria das mulheres grávidas tratadas com lítio gera crianças livres de malformação congênita. Porém, este íon quando administrado durante o período puerperal, mesmo em doses terapêuticas, poderia influenciar o comportamento das gerações descendentes, independentemente da produção de alterações morfológicas. Tais estudos são, atualmente, escassos e foram realizados em sua totalidade, utilizando animais de laboratório, devido às questões éticas e metodológicas implícitas aos estudos humanos.

Dentre os poucos estudos existentes alguns demonstraram que a exposição de ratas ao  $\text{Li}^+$ , antes e durante a gestação e lactação, reduziu o peso ao nascer dos descendentes<sup>4</sup>. Foi observado, também, que o tratamento crônico das ratas com lítio (10mM, na água de beber que fornece níveis séricos equivalentes aos profiláticos utilizados na clínica), no período pré e pós-natal, reduziu a data de abertura do olho e o ganho de peso da prole<sup>6</sup>. Outro estudo<sup>6</sup> demonstrou que o tratamento perinatal com lítio,

nas doses profiláticas, não alterou a resposta comportamental, testada na prole em idade adulta, por meio dos testes de emocionalidade, depressão e ansiedade. A neurotoxicidade dos sais de lítio ligada ao desenvolvimento foi, também, determinada em camundongos, amamentados por mães que ingeriram  $\text{LiCl}$ , durante o período puerperal (1mEq sérico). A toxicidade, observada por alterações no peso dos principais órgãos, mostrou ser dependente do tempo de exposição ao  $\text{Li}^+$  e da variável sexo, sendo particularmente evidente nas fêmeas em desenvolvimento<sup>7</sup> observaram que o tratamento com lítio, antes e durante a gravidez (20mM, na água de beber, nível sérico de  $1\text{mmolLi}^+/\text{L}$ ), provocou um aumento da sensibilidade ao estresse nos descendentes de ratas de linhagens resistentes ao estresse (*Uje: WIST*). Este efeito foi evidenciado somente quando estes animais eram expostos ao estresse intenso durante as duas últimas semanas de gestação.

Diante do exposto, nos interessou neste estudo, investigar o impacto do tratamento perinatal com lítio sobre o desenvolvimento cognitivo de aprendizado e memória em proles de ratas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas ratas nulíparas da linhagem *Wistar* pesando aproximadamente 200 gramas, fornecidas pelo Biotério Central, Universidade Estadual de Campinas. Os animais foram mantidos no biotério do laboratório de Psicofarmacologia no departamento de Farmacologia, à temperatura ambiente de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$  e ciclo de 12h/claro e 12h/escuro, tendo acesso à ração e água *ad libitum*.

Fêmeas, no dia zero de prenhez foram divididas em dois subgrupos: o primeiro, usado como controle, foi tratado com  $\text{NaCl}$  10mM *ad libitum* durante toda a prenhez e lactação (subgrupo *Sal*); o segundo recebeu solução de  $\text{LiCl}$  10mM nas mesmas condições (subgrupo *Li*). Tal procedimento fornece níveis séricos em torno de  $0,5\text{mEq/L}$ , portanto dentro da faixa profilática utilizada na clínica<sup>5</sup>. No primeiro

dia de vida pós-natal, as ninhadas foram reduzidas a oito filhotes por fêmea. Após a adoção cruzada, seguiu-se o tratamento com as soluções de NaCl ou LiCl até o desmame, realizado 22 dias após o nascimento dos filhotes. Deste modo, os seguintes grupos experimentais foram formados: *Controle*: 10 ninhadas expostas ao NaCl 10mM durante toda a gestação e lactação; *LiPós*: 10 ninhadas expostas ao NaCl 10mM durante a gestação e que receberam LiCl 10mM durante a lactação; *LiPré*: 10 ninhadas expostas ao LiCl 10mM durante a gestação e que receberam NaCl 10mM durante a lactação; *Li*: 10 ninhadas expostas ao LiCl 10mM durante toda a gestação e lactação. Todos os subgrupos experimentais foram analisados na idade adulta, entre 77 e 85 dias, sendo utilizado apenas os filhotes fêmeas (uma por ninhada), para cada teste comportamental. Foram utilizados seguintes testes comportamentais (n=10 fêmeas por teste): Esquiva Ativa sinalizada (EAS)<sup>8</sup>, Teste de Fuga (TF)<sup>6</sup>, Esquiva Passiva (EP)<sup>9</sup> e Campo Aberto (CA)<sup>10</sup>.

Nos testes de EAS e TF, utiliza-se uma caixa de alternância, com duas câmaras iguais, onde os animais são treinados a pular de uma câmara para a outra de forma alternada, a fim de evitar o estímulo aversivo incondicionado (choque leve de 1 mA nas patas) que virá precedido ou não de um sinal sonoro (estímulo condicionado). Dependendo do esquema de condicionamento aplicado espera-se que os animais aguardem até o início dos choques, para depois alternar de câmara (esquiva não sinalizada ou também conhecido como teste de fuga) ou que alternem de câmara assim que o som seja aplicado (esquiva ativa sinalizada). No teste de EP, utiliza-se uma caixa de movimentação com duas câmaras interligadas. Uma das câmaras é pequena, clara e permanece iluminada, durante a aplicação do teste. A outra câmara é grande e está completamente escurecida. Requer-se que animais treinados a evitar a câmara escura permaneçam na câmara clara (e portanto, aversiva para o rato) por um limite determinado de tempo evitando assim, passivamente, a aplicação do estímulo aversivo (choque leve nas patas a que foram condicionados na câmara escura). No

teste de CA, coloca-se o animal no centro de uma arena e registra-se o tempo que o animal leva para iniciar a exploração desta área. Registra-se o tempo de permanência do animal no centro da arena desde o início do teste, a movimentação espontânea (através da contagem do número de quadrados invadidos, desenhados no piso da arena) e o número de vezes que o animal apoia-se apenas nas patas traseiras, no período de três minutos de teste.

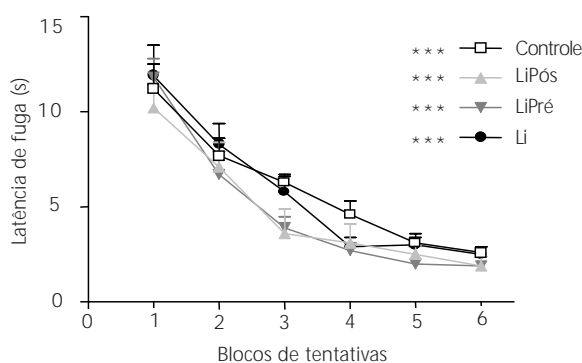
Os resultados obtidos foram avaliados por meio de: 1) análises não paramétricas - os resultados foram expressos como mediana. Na comparação entre os tratamentos efetuamos a análise de variância de Kruskal-Wallis, seguida do teste de Dunn para comparações múltiplas; 2) *análises paramétricas* - os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Na comparação entre os tratamentos utilizamos Anova seguida do teste de *Student-Newman-Keuls*. Na comparação das variáveis de um mesmo grupo em tempos diferentes, utilizamos o *test "t"* pareado. Os valores de probabilidade (p) foram considerados significantes se menores que 0,05.

## RESULTADOS

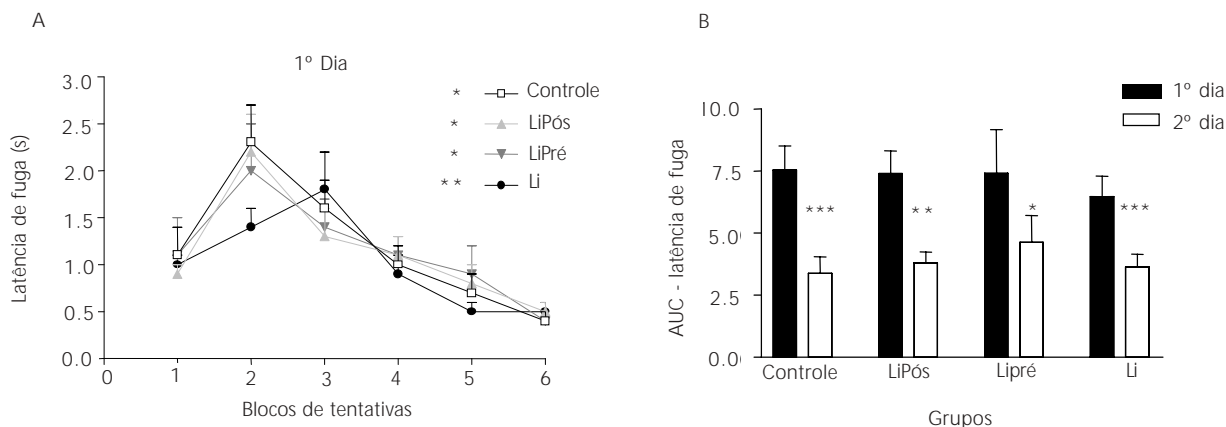
O Teste de Fuga (TF) analisou a resposta de fuga subsequente a um estímulo não condicionado. Os grupos submetidos ao tratamento pré e pós natal com LiCl (*LiPós*, *LiPré* e *Li*) e o grupo Controle, tratado com NaCl durante toda a prenhez e lactação, demonstraram a retenção de aprendizado não associativo de curto prazo (Figura1: *test "t"* pareado, 1° x 6° bloco; \*\*\* $p < 0,001$ ). Anova seguida do teste de *Student-Newman-Keuls*, realizado na área sob cada curva da latência de fuga, não revelou diferença estatisticamente significativa na execução da tarefa. Esses resultados demonstram um desempenho semelhante entre os grupos analisados neste tipo de aprendizado.

O teste de Esquiva Ativa Sinalizada (EAS) analisou a resposta de fuga subsequente a um estímulo condicionado. Os grupos *LiPós*, *LiPré* e *Li* e o grupo Controle demonstraram a retenção de um

aprendizado associativo de curto prazo, no primeiro dia do teste (Figura 2A: *teste "t"* pareado, 1° x 6° bloco; \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$ ). Todos os grupos conseguiram armazenar e evocar as informações apreendidas no dia anterior (Figura 2B: *teste "t"* pareado, 1° x 2° dia, AUC; \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa na execução das tarefas no primeiro e no segundo dia (Anova e *Student-Newman-Keuls*, AUC) entre os grupos.



**Figura 1.** Teste de fuga. Latência média de fuga (s), para os quatro grupos experimentais (N=10 por grupo); cada bloco representa a média  $\pm$  EPM de 5 tentativas. Os animais de todos os grupos aprenderam a tarefa, melhorando seu desempenho (*teste-t* pareado, 1° x 6° bloco \*\*\* $p < 0,0001$ ). Não houve diferença de aprendizado entre os grupos analisados (Anova e *Student-Newman/Keuls*).



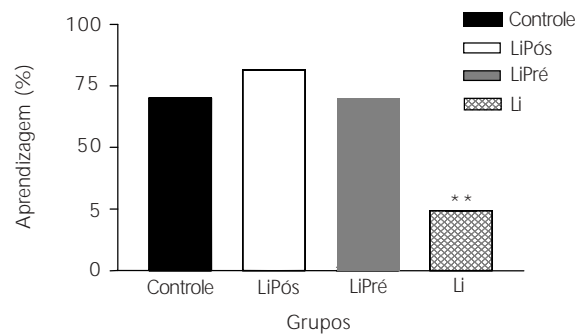
**Figura 2.** Teste de Esquiva ativa sinalizada. (A) Latência média de fuga (s), para os quatro grupos experimentais (N=10 por grupo); cada bloco representa a média  $\pm$  EPM de 5 tentativas. Todos os grupos aprenderam a tarefa no primeiro dia (*teste-t* pareado, 1° x 6° bloco; \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$ ). (B) Área sob a curva da latência de fuga dos quatro grupos experimentais (N=10 grupo), no 1° e 2° dia. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM para fêmeas por grupo. Todos os grupos conseguiram armazenar e evocar as informações apreendidas no dia anterior (*teste - "t"* pareado, 1° x 2° dia, AUC; \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ ). Não houve diferença na aquisição (1° dia) e na retenção e evocação de informações (2° dia) entre os grupos analisados (Anova e *Student-Newman-Keuls*, AUC).

O grupo tratado com LiCl, durante a prenhez e lactação (*Li*), aprendeu a tarefa de fuga, demonstrado através de uma redução da latência no decorrer da sessão no primeiro dia de teste (Figura 2A: *teste "t"* pareado, 1° x 6° bloco; \*\* $p < 0,01$ ). No entanto, estes animais parecem ter uma dificuldade adicional em entender a tarefa de esquiva, necessitando de uma maior exposição ao teste comportamental. Os grupos Controle, LiPós e LiPré iniciaram o aprendizado da tarefa no segundo bloco de tentativas. O grupo *Li* apresentou um retardo no aprendizado, caracterizado pelo aparecimento do pico da curva somente no terceiro bloco de tentativas.

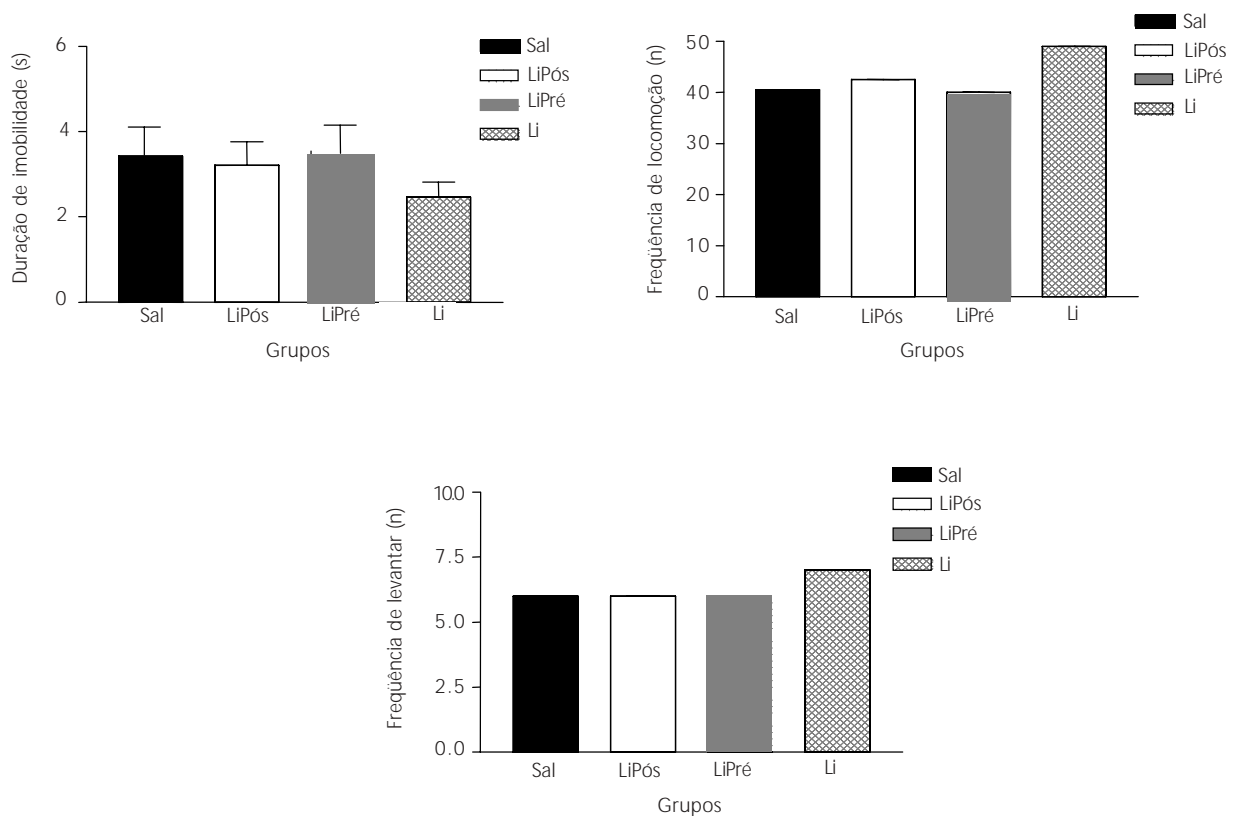
O teste de Esquiva Passiva (EP) analisou o aprendizado de novas informações e a capacidade do animal em controlar a atenção e a atividade motora. O grupo *Li* apresentou diferença de aprendizado em relação ao grupo Controle (Figura 3: Anova e *Student-Newman-Keuls*; \*\* $p < 0,01$ ). Esses resultados revelaram uma alteração comportamental relacionada a uma desatenção, baixo controle de impulso e/ou hiperatividade dos animais.

O teste de Campo Aberto (CA) (Figura 4) analisou medidas de exploração e emocionalidade em ratas na idade adulta. O tempo de imobilidade dos grupos Controle, LiPós, LiPré e *Li* foi de  $3,4 \pm 0,6$ ;

3,2 ± 0,5; 3,5 ± 0,7 e 2,5 ± 0,4 segundos, respectivamente (média ± E.P.M., para 10 fêmeas por grupo). Os valores em mediana para a frequência de locomoção dos grupos Controle, LiPós, LiPré e Li foram 40,5; 42,5; 40,0 e 49,0; e para a frequência de levantar foram 6,0; 6,0; 6,0 e 7,0, respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa em quaisquer das medidas analisadas (Kruskal-Wallis e teste de Dunn para frequência de locomoção e frequência de levantar; Anova e *Student-Newman-Keuls* para tempo de imobilidade). Portanto, esses resultados revelaram comportamento emocional e de exploração semelhante entre os grupos.



**Figura 3.** Teste de Esquiva Passiva. Determinação da aprendizagem (em porcentagem) para os quatro grupos experimentais (N=10 por grupo); cada barra representa a média de 10 animais por grupo. O grupo Li apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle (Anova e *Student-Newman-Keuls*, \*\* $p < 0,01$ ).



**Figura 4.** Teste de campo aberto. Resultados da determinação dos comportamentos de: tempo de centro, ambulação e levantamento, no teste de campo aberto, para os quatro grupos experimentais (N=10 por grupo). Os valores são expressos em mediana (para frequência de locomoção e levantar) e média (para o tempo de imobilidade). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes em nenhum dos parâmetros, para os grupos tratados com lítio, em relação ao grupo controle (Kruskal-Wallis seguido de teste de Dunn).



## DISCUSSÃO

É essencial considerar os riscos do uso de lítio durante a gravidez, que podem incluir os efeitos teratogênicos, o efeito tóxico neonatal direto, e o potencial para seqüelas neuro-comportamentais. Este último foi objeto do presente estudo, investigando a possibilidade do lítio, quando administrado durante toda a gravidez e/ou lactação, alterar o comportamento cognitivo de ambos, aprendizado e memória, nas gerações descendentes de crias de ratos, em idade adulta.

O lítio foi administrado na água de beber dos animais, fornecendo níveis séricos para a mãe dentro da faixa profilática utilizada na clínica. A escolha deste tratamento é fundamentada na maior probabilidade das pacientes engravidarem, durante o tratamento crônico, do que durante o tratamento agudo. Este nível sérico é considerado baixo em termos toxicológicos, porém, é farmacologicamente ativo, uma vez que provou ser eficiente em bloquear os efeitos comportamentais em teste com animal em depressão e não causou toxicidade às mães<sup>5,11</sup>. No entanto, mesmo em níveis profiláticos, o uso de lítio durante a gravidez e/ou lactação pode comprometer o desenvolvimento intra-uterino e pós-natal dos descendentes expostos. Quatro grupos experimentais foram submetidos a diferentes períodos de tratamento: pré-natal, lactação e ambos. Assim, foi possível certificar se os possíveis efeitos do lítio, sobre o comportamento dos descendentes, estavam relacionados com a fase do desenvolvimento em que foram expostos.

O primeiro teste utilizado para a avaliação do desenvolvimento cognitivo de aprendizado e memória foi o Teste de Fuga (TF), um modelo validado para a determinação de aprendizado não associativo. Este teste possibilitou averiguar a capacidade do animal em armazenar as informações adquiridas, apenas em curto prazo, visto que o comportamento é analisado em apenas uma etapa. Os resultados revelaram que, além de todos os grupos analisados terem aprendido a tarefa, também o fizeram de forma similar (Figura 1). Desmembrando

o conceito aprendido, pôde-se constatar que todos os animais, expostos aos tratamentos com lítio, desempenharam com êxito a tarefa de aquisição, retenção e evocação de informações em curto prazo.

O aprendizado associativo, por sua vez, foi avaliado por meio de dois tipos de condicionamentos: clássico e instrumental (ou operante). O condicionamento clássico, representado pelo teste de Esquiva Ativa Sinalizada (EAS), foi analisado em duas etapas. Desta forma, foi possível avaliar a armazenagem de informações a curto e longo prazo. Na primeira etapa (1º dia de teste), os grupos Controle, LiPós, LiPré e Li aprenderam, de forma semelhante, a tarefa associativa de curto prazo (Figuras 2A). Na segunda etapa (24 horas após a primeira exposição), todos os grupos conseguiram evocar as informações aprendidas no dia anterior, sem apresentar diferenças estatisticamente significantes na execução da tarefa (Figura 2B). Este teste revela uma integridade da capacidade em adquirir, armazenar e evocar informações, de longo prazo, de todos os grupos analisados. No entanto, os animais tratados com lítio, durante toda gravidez e lactação (grupo Li), parecem ter uma dificuldade adicional para entender a tarefa de esquiva associativa, mais complexa que a anterior, proposta no TF. Este grupo necessitou de um bloco de tentativas a mais em relação aos demais grupos para iniciar o aprendizado. Este retardo no entendimento do teste experimental não nos indicou uma deficiência no aprendizado, uma vez que os animais do grupo Li desempenharam a tarefa com êxito (Figura 2A: *test "t" pareado, 1° x 6° bloco; \*\* $p < 0,01$* ). Porém, é visível que este grupo apresentou uma alteração comportamental, não sendo possível até este momento, associar a um processo neuropsicológico específico que poderia estar interferindo no aprendizado/memória.

O condicionamento instrumental ou operante envolve circuitos neurais considerados mais complexos que aqueles envolvidos no condicionamento clássico<sup>12</sup>. Ao contrário da EAS, na EP o animal deve demonstrar seu aprendizado, inibindo os instintos fisiológicos de sua espécie, permanecendo no compartimento aversivo da caixa de esquiva para



prevenir a liberação de choque nas patas. Esta característica confere uma sensibilidade complementar a este teste comportamental, sendo extremamente relevante para esta pesquisa. Possibilitou detectar alterações sutis em processos neuropsicológicos como atenção, controle de impulsividade e atividade motora, fonte de questionamento do teste de Esquiva Ativa Sinalizada. No teste de Esquiva Passiva, os animais do grupo Li revelaram diferença de aprendizado em relação ao grupo *Controle* (Figura 3. Anova e *Student-Newman-Keuls*; \*\* $p < 0,01$ ). Essa diferença de aprendizado não foi associada a uma alteração nos mecanismos de aquisição, retenção e evocação de informações, uma vez que este mesmo grupo aprende com sucesso as tarefas impostas nos TF e EAS. Os resultados demonstram que a exposição ao lítio, durante toda a gravidez e lactação, estaria relacionada a uma incapacidade parcial ou total de fixar a atenção, a um déficit no controle de impulso e/ou hiperatividade desses animais, que comprometeriam a aquisição de informações.

As áreas cerebrais mediadoras dos processos de atenção e concentração são, supostamente, as projeções noradrenérgicas pré-frontais e a via dopaminérgica mesocortical<sup>13</sup>. O estado de alerta, em geral, é considerado uma condição que cursa com o aumento de dopamina e noradrenalina nestas vias. Uma vez que<sup>14</sup> observou-se que o lítio antagoniza a ação da noradrenalina nos neurônios pré-frontais de ratos, sugere-se que o possível déficit de atenção encontrado seja reflexo da deficiência de noradrenalina nesta via.

Embora a hiperatividade motora e/ou impulsividade e desatenção sejam controladas pela dopamina, outras vias diferentes estão envolvidas. A hiperatividade é, também, mediada pela atividade dopaminérgica, porém pela via nigroestriatal. A impulsividade pode ser inibida pela ação do glutamato sobre o córtex passando pelo estriado. O aumento da dopamina induzido nesta via, através de estimulantes, pode aumentar a atividade motora e a impulsividade<sup>13</sup>. Desde que o lítio pode aumentar a sensibilidade dos receptores de dopamina no

estriado de cérebro de ratos<sup>15</sup>, o aumento da atividade desta via poderia justificar os resultados de hiperatividade encontrada nos animais do grupo Li.

O teste de Campo Aberto foi utilizado para analisar a atividade motora dos animais, por meio de medidas de exploração e emocionalidade. Neste experimento, o sujeito experimental foi exposto a um novo ambiente o que gerou um conflito entre exploração e medo do desconhecido. Mais do que isto, este teste se mostrou fundamental para o presente estudo, à medida que, possibilitou detectar alterações na capacidade de movimentação do animal. A integridade de movimentos é essencial para a execução dos demais testes, pois, qualquer deficiência na locomoção levaria a interpretações errôneas dos resultados. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nas medidas analisadas: duração de imobilidade, frequência de locomoção e frequência de levantar.

Os inúmeros estudos neste campo têm mostrado que muitas, e provavelmente todas, as regiões do SNC, contêm neurônios com as propriedades necessárias para a atividade mnêmica<sup>12</sup>. Os traços de memória para diferentes tipos de aprendizado não estão localizados em uma única estrutura cerebral, mas distribuídos em diferentes partes do SNC<sup>16</sup>. O hipocampo é uma estrutura essencial para o complexo funcionamento dos processos neurais de aprendizado, memória e atenção. No entanto, um vasto conjunto de outras estruturas é acionado para o perfeito funcionamento mnêmico. São elas: o córtex frontal e o córtex parietal posterior que recebem informações sensoriais do tálamo e das áreas de associação corticais, informações motoras dos gânglios da base e colículo superior, informações límbicas do giro do cíngulo e amígdala. Além disso, todas estas áreas recebem aferência da formação reticular que regula o nível de ativação de cada uma delas<sup>17</sup>. Desta forma, são inúmeros os fatores que podem comprometer o desenvolvimento destas estruturas cerebrais no feto, durante o período perinatal. Somente a análise direta do cérebro *pari passu*, estudos bioquímicos e imunocitoquímicos poderiam mapear os circuitos

neurais envolvidos com o aprendizado, memória e atenção, nos testes comportamentais utilizados. Estes estudos adicionais seriam promissores, e extremamente relevantes, para direcionar conclusões mais precisas sobre o papel do lítio no desenvolvimento cognitivo. Considerando os resultados obtidos no teste de esQUIVA passiva, este estudo aponta evidências que sugerem que a administração de LiCl, durante toda gravidez e lactação, ocasionou um prejuízo da atenção/aquisição de informações. Porém, não alterou os sistemas de retenção e evocação da memória, demonstrando êxito na execução das tarefas propostas nos testes comportamentais de fuga (TF) e esQUIVA ativa sinalizada.

Assim como a maioria dos autores<sup>18-20</sup>, os resultados revelam a contra indicação de aleitamento materno quando o feto foi previamente exposto ao LiCl, durante a gravidez, e a mãe continua sob tratamento durante a lactação. No entanto, trata-se de uma resolução animadora que suporta uma possível utilização de Li<sup>+</sup> durante a gravidez, uma vez que os resultados se mostram negativos apenas para o grupo exposto ao LiCl durante todo o período perinatal.

## REFERÊNCIAS

1. Packer S. Family planning for women with bipolar disorder. *Hosp Com Psychiatry* 1992; 43(5):479-82.
2. Altshuler LL, Cohen L, Szuba MP, Burt VK, Gitlin M, Mintz J. Pharmacological Management of Psychiatric Illness During Pregnancy: Dilemmas and Guidelines. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 592-606.
3. Schou M. Lithium treatment during pregnancy, delivery and lactation: an update [Review]. *J Clin Psychiatry* 1990; 51(10):410-13.
4. Sechzer JA, Lieberman KW, Alexander GJ, Weidman D, Stokes PE. Aberrating parenting and delayed offspring development in rat's exposure to lithium. *Biol Psychiatry* 1986; 2113:1258-66.
5. Teixeira NA, Lopes RCM, Secoli SR. Developmental toxicity of lithium treatment at prophylactic levels. *Braz J Med and Biol Res* 1995; 282:230-39.
6. Varriano MA, Varriano AA, Datti F, Datti M, Antunes E, Teixeira NA. Evidence that behavioral depression does not influence airway cell influx in allergic rats. *Mediators of Inflammation* 2001; 10:229-32.
7. Glockner R, Schwarz S, Jahne F. Enhanced effect of chronic stress on pregnancy outcome in Uje: WIST rats by prenatal treatment with lithium. *Exp Toxic Pathol* 1993; 45:35-7.
8. Radwanska K, Nokolae E, Knapsk E, Kaczmarek L. Differential response of two subdivisions of lateral amygdala to aversive conditioning as revealed by c-Fos and P-ERK mapping. *Neuroreport* 2002; 13(17):2241-6.
9. Vnauer J, Muller WE. Anseculin improves passive avoidance learning of aged mice. *Pharmacol Res* 2003; 47(3):225-33.
10. Meisel RL, Dohanich GD, Ward I. Effects of prenatal stress of avoidance acquisition on open field performance and lordotic behavior in male rats. *Physiol Behav* 1979; 22:527-31.
11. Faria MS, Teixeira NA. Reversion of learned helplessness by chronic lithium treatment at a prophylactic level. *Braz J Med Biol Res* 1993; 26:1201-12.
12. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. *Neurociências: desvendando o sistema nervoso*. Porto Alegre: Artmed; 2002.
13. Stahl SM. *Psicofarmacologia*. São Paulo: Medsi; 2002.
14. Kovacs P, Hernadi I. Iontophoresis of lithium antagonizes noradrenergic action on prefrontal neurons of rat. *Brain Res* 2002; 23(1):150-6.
15. Kameda K, Miura J, Suzuki K, Kusumi I, Tanaka T, Koyama T. Effects of lithium on dopamine D2 receptor expression in the rat brain striatum. *J Neural Transm* 2001; 108(3):321-34.

16. Cahill L, Mcgaugh JL, Weinberger NM. The neurobiology of learning and memory: some reminders to remember. *Trends Neuroscience* 2001; 24(10):578-81.
17. Brandão ML. *Psicofisiologia*. São Paulo: Atheneu; 2000.
18. Robinson GE, Stewart DE. Postpartum psychiatric disorders. *CMAJ* 1986; 134(1):31-7.
19. Beers MJ, Berkow R. *Manual Merk*. 17.ed. São Paulo: Merk & Co; 2000.
20. Ernst CL, Goldberg JF. The reproductive safety profile of mood stabilizers, atypical ant psychotics and broad-spectrum psychotropics. *J Clin Psychiatry* 2002; 63(4):42-55.

Recebido para publicação em 14 de abril e aceito em 18 de setembro de 2003.

