
**ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL DO RATO COM LESÕES DA
FORMAÇÃO RETICULAR MESENCEFÁLICA**

WALTER C. PEREIRA *
TANIA LEME DA ROCHA **
CESAR TIMO-IARIA ***

Desde 1965 o Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo vem estudando os mecanismos de sono no rato com o intuito de verificar se os fenômenos descritos em outras espécies são também nêles observados. Este animal, pouco utilizado para tal estudo, apresenta vantagens sobre outros mamíferos de maior porte. Sendo seu cérebro de diminutas dimensões, há mais facilidade para a exploração de grande número de áreas, utilizando quantidade relativamente pequena de preparações. A resistência do rato às infecções aumenta a possibilidade de observar as preparações crônicas por períodos longos de tempo. Além disso, seu ciclo vital é muito menor que o de outros animais empregados rotineiramente em estudos neurofisiológicos relacionados com o sono e, assim, os fenômenos observados são mais abreviados, facilitando sua análise. Acrescente-se que, como realçou Negrão²⁹, as características eletrofisiológicas do sono espontâneo no rato são qualitativamente muito semelhantes às encontradas em outros mamíferos estudados, inclusive o homem. Provavelmente este fato permite a extrapolação dos fenômenos nêles observados para as outras espécies de mamíferos.

Em 1967 Negrão²⁹ apresentou os resultados de seus estudos sobre os fusos observados durante os sonos barbitúrico e espontâneo, potenciais de recrutamento e ciclos de sono no rato albino da raça Wistar, assinalando a grande semelhança das características eletrofisiológicas dos fusos nos três tipos de preparação; a diferença mais importante encontrada foi quanto à distribuição topográfica dos potenciais de recrutamento sobre o córtex cerebral que é mais extensa que a dos fusos espontâneos e barbitúricos. Em relação aos ciclos de sono, Negrão chamou a atenção para sua irregularidade e para o reconhecimento de quase todas as fases que caracterizam o sono humano.

* Assistente da Clínica Neurológica, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; ** Assistente e *** Professor Adjunto do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

No presente trabalho será focalizada a preparação cérebro isolado no rato albino da raça Wistar. Como tal serão consideradas preparações agudas ou crônicas, com lesões eletrolíticas parciais ou totais, uni ou bilaterais, da formação reticular mesencefálica ou da transição mesodiencefálica. O objetivo principal deste estudo é o de verificar a influência sobre o eletrocorticograma (ECoG) da destruição total ou parcial do sistema reticular ativador ascendente. Embora tais estudos tenham sido realizados em outros animais, não temos conhecimento de pesquisas análogas no rato. Outra finalidade deste trabalho é a de comparar os fusos da preparação cérebro isolado com os observados por Negrão no sono espontâneo, na hipnose barbíturica e nas respostas de recrutamento. Esta comparação é de grande importância para a análise do papel da formação reticular mesencefálica no mecanismo de produção dos fusos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 73 ratos da raça Wistar, machos e fêmeas, cujos pesos variaram de 160 a 300 g, sendo analisados os efeitos observados em preparações agudas, em preparações agudas com animais previamente lesados e em preparações crônicas.

Como um dos objetivos era o de estabelecer a topografia cortical dos fusos na preparação cérebro isolado no rato, tornou-se essencial a colocação precisa dos dos eletrodos de registro sobre áreas previamente determinadas.

Estudos preliminares (Negrão²⁹) mostraram que, em ratos com peso dentro dos limites por nós usados, a distância entre as suturas lambdóideia e coronária na linha mediosagital varia de 7,5 a 8 mm. Além disto, o comprimento do cérebro destes animais oscila entre 17,2 e 17,5 mm. O pólo frontal situa-se ao nível da sutura nasofrontal e, o occipital, à altura de uma linha que passa 3 mm atrás da confluência das suturas lambdóideia e sagital (fig. 1).

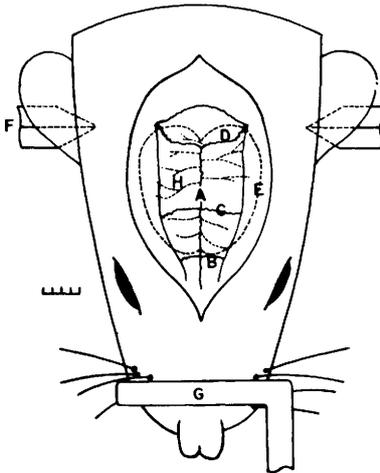


Fig. 1 — Esquema das suturas do crânio no rato. A, sutura sagital. B, sutura nasofrontal. C, sutura coronária. D, sutura lambdóideia. E, projeção externa do contorno do cérebro. F e G, barra auricular e presilha nasal do aparelho estereotáxico. H, vasos corticais. Escala: 1 mm/divisão.

A constância destas relações permitiu utilizar as suturas cranianas como pontos de referência para determinar as coordenadas das posições dos eletrodos sobre o córtex cerebral. A identificação de cada ponto da superfície cortical era feita ulte-

riormente, lançando-se suas coordenadas em um mapa cartesiano das áreas citoarquitônicas do cérebro do rato (segundo Krieg²²), corrigido para efeito de paralaxe e adaptado às nossas medidas (fig. 2).

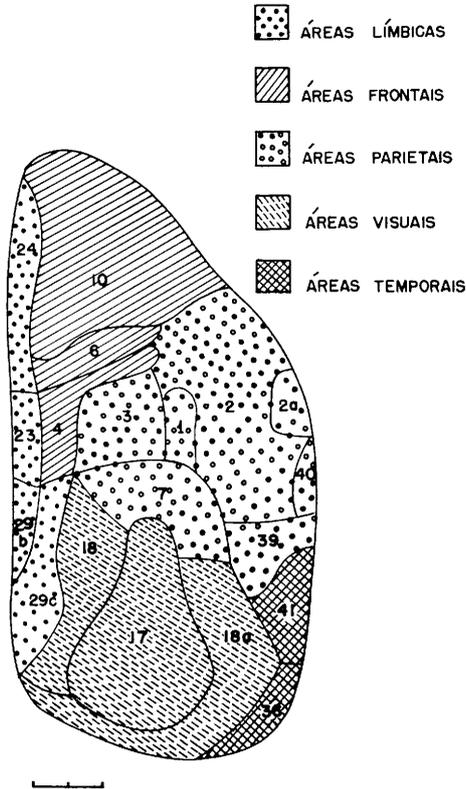


Fig. 2 — Mapa citoarquitetônico da superfície dorsolateral do córtex cerebral no rato, segundo Krieg.

Preparações agudas — Fizemos 49 preparações agudas, nas quais o processo experimental se prolongava, em geral, por 4 a 6 horas. O animal era anestesiado com éter etílico e operado sobre mesa aquecida. Canulávamos a veia femoral com cateter de polietileno (PE 50), o qual era adaptado a seringa contendo solução fisiológica; esta via era usada durante a experiência para injeção de drogas. A seguir praticávamos traqueostomia, a fim de permitir a ventilação artificial. Antes de fixarmos a cabeça do rato no aparelho estereotáxico, infiltrávamos os tecidos subcutâneo e muscular com solução de xilocaina a 2% associada à adrenalina. Esta droga era aplicada com a dupla finalidade de permitir a operação com doses menores de éter e de reduzir o sangramento.

Após a colocação do animal no aparelho estereotáxico, a pele da região craniana era incisada longitudinalmente sobre a sutura sagital. Mediante divisão, a pele de ambos os lados era rebatida e suas bordas mantidas afastadas com pinças arteriais. O perióstio era aberto e o osso curetado até as zonas de inserção das massas musculares temporais; anteriormente a exposição do osso ultrapassava a sutura nasofrontal e, posteriormente, a sutura lambdóidea. As inserções dos músculos temporais eram seccionadas e as massas musculares rebatidas, expondo-se as faces laterais do crânio até o nível das arcadas zigomáticas. Com pequeno trépano eram feitas duas ou mais perfurações nos ossos parietais e frontais para possibilitar a introdução de

pinça hemostática curva com a qual os orifícios eram ampliados. A seguir, com uma goiva, era praticada craniectomia, cujas dimensões e topografia variavam conforme a finalidade da preparação. A retirada do osso era feita com o máximo cuidado, usando-se lupa ou microscópio binoculares, a fim de não lesar a dura-máter e o córtex cerebral. Logo depois de exposta, a dura-máter era recoberta com fina camada de vaselina líquida, que evitava seu ressecamento durante a experiência.

A atividade elétrica da superfície dorsolateral do cérebro era registrada mediante 2 ou 3 pares de eletródios ligados em derivação bipolar. Estes eletródios eram feitos de fios de aço inoxidável, soldados a fios de platina, cujas extremidades terminavam em forma de esferas com cerca de 1 mm de diâmetro; a distância entre as esferas era também de 1 mm. Os eletródios eram montados no aparelho estereotático de maneira que seus deslocamentos podiam ser medidos com precisão de décimos de milímetro (fig. 3). As esferas ficavam levemente apoiadas sobre a dura-máter. A colocação dos eletródios sobre o córtex variava de acordo com o tipo e a finalidade da preparação.

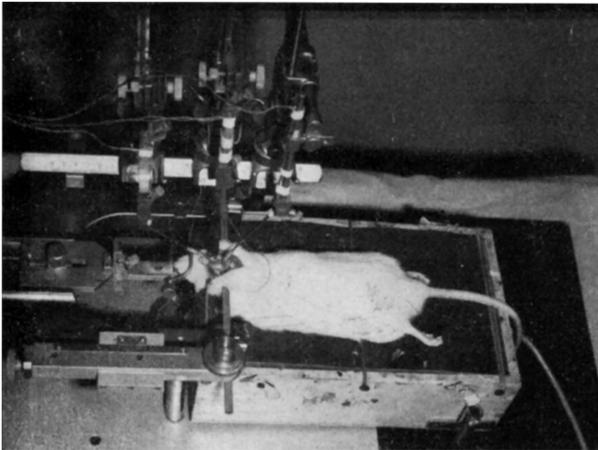


Fig. 3 — Preparação aguda pronta para registro, observando-se três pares de eletródios apoiados sobre a dura-máter. Os fios vistos à esquerda ligam os eletródios ao painel de entrada do polígrafo.

Após a lesão eletrolítica das áreas desejadas a administração de éter era suspensa e a cânula traqueal ligada a uma bomba para respiração artificial. A seguir injetávamos, pelo cateter da veia femoral, 6 a 10 mg de triodoetilato de galamina (Flaxedil), provocando interrupção completa dos movimentos respiratórios espontâneos do animal. A ventilação pulmonar era convenientemente ajustada mediante válvula adaptada à tubuladura. A curarização foi empregada para impedir movimentos durante o registro, os quais provocariam artefatos, pois os ratos eram geralmente mantidos sem anestesia após a lesão.

Em todas as preparações agudas foi registrado o eletrocardiograma, sempre tomado na derivação D_3 , com a finalidade de controlar as condições de vitalidade do animal, suspendendo-se a experiência quando estas não fôssem satisfatórias.

Preparações agudas com animais lesados previamente — Nestas preparações a destruição estereotática da formação reticular mesencefálica era praticada 5 a 20 dias antes do registro do ECoG. Para este registro único o animal era tratado exatamente da mesma forma que nas preparações agudas. Preparamos desta maneira 5 animais, 4 dos quais com lesão unilateral e um com lesão bilateral da substância reticular do mesencéfalo.

Preparações crônicas — Preparamos cronicamente 19 animais. Convencionamos, porém, que somente aqueles que sobreviveram (13) mais de 48 horas seriam considerados como preparações crônicas. Os 6 restantes — 5 preparações de cérebro isolado bilateral e um unilateral — foram aproveitados para análise como prepara-

ções agudas. Os 13 ratos considerados como crônicos — 6 com lesão bilateral e 7 com lesão unilateral da formação reticular mesencefálica — foram observados durante períodos de tempo que variaram de 2 a 14 dias (média: 8 dias).

Para o ato operatório o rato era anestesiado com tiobarbitúrico (Nesdonal), injetado por via intraperitoneal na dose de 40 mg/kg de peso. A cabeça do animal era fixada ao aparelho estereotáxico e a incisão da pele e periósteo feita da mesma maneira que nas preparações agudas. Nas crônicas, porém, esta incisão se prolongava até 1 ou 2 cm além da região occipital, a fim de expor a musculatura posterior do pescoço. A seguir eram feitas duas trepanações simétricas, imediatamente atrás da sutura coronária, a 2 ou 3 mm da linha média. Com o auxílio de pinça hemostática e goiva, estes orifícios eram ampliados para permitir a colocação dos eletródios de registro do ECOG sobre a superfície da dura-máter. Esta topografia foi escolhida porque se determinara previamente ser ela ideal para o registro de fusos (área 2 de Krieg).

A craniectomia para introdução do eletródio destinado a lesar áreas do mesencéfalo foi feita unilateral ou bilateralmente conforme o objetivo da preparação. A musculatura das fossas temporais era, a seguir, desinserida e duas perfurações feitas nos ossos temporais, logo abaixo da zona de inserção do músculo, com agulha de injeção de calibre fino. Estes pequenos orifícios tinham a finalidade de apoiar uma presilha de aço inoxidável, com a qual fixávamos os eletródios implantados sobre o crânio.

Para o registro do ECOG usamos eletródios de níquel-cromo com 100 μ de espessura. Estes eletródios tinham um isolamento original de seda, o qual era reforçado como mais 3 ou 4 camadas de verniz isolante. Depois de soldados a um soquete miniatura de 7 pinos, o isolamento da extremidade livre era retirado e aí feita uma alça com cerca de 1 mm de diâmetro. Tais eletródios eram introduzidos, um par de cada lado, através das craniectomias feitas previamente junto à sutura coronária. As duas alças terminais de cada par eram fixadas sobre a dura-máter, ficando separadas entre si por 1 ou 2 mm. Sempre tínhamos o cuidado de introduzir o eletródio alguns milímetros para frente do local trepanado, a fim de que suas extremidades não isoladas ficassem em contacto com córtex não lesado pela operação ou pelo acrílico usado para a fixação.

Outros dois eletródios, eram implantados na musculatura cervical para registro do eletromiograma (EMG). O último eletródio era utilizado como terra, sendo sua extremidade não isolada implantada na musculatura da região temporal direita.

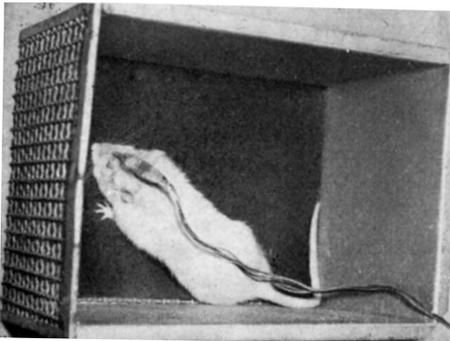


Fig. 4 — Rato com eletródios implantados cronicamente. Os fios que aparecem à direita ligam o animal ao painel de entrada do polígrafo através de um soquete.

A parte isolada dos eletródios, assim como o soquete, eram fixados ao crânio com metilmetacrilato de polimerização rápida. Para obter preparações mais duradouras e sem artefatos verificamos ser necessário prender mais firmemente o soquete ao crânio, pois o acrílico por si só não o mantinha imóvel por muito tempo. Para tal usamos presilha de aço inoxidável nº. 22, em forma de semicírculo com cerca de 1,5 cm de diâmetro; as extremidades do fio eram dobradas em ângulo reto

e introduzidas sob pressão nas perfurações feitas nas regiões temporais. Esta pre-silha envolvia tanto os eletrodios como o soquete e era incluída na mesma prótese de acrílico, dando ao conjunto grande resistência e total imobilidade por muitos dias (Fig. 4).

Como regra, a lesão foi feita bilateralmente na mesma sessão operatória. Em apenas um animal, na primeira operação, lesamos somente uma das metades da formação reticular mesencefálica; após 6 dias de observação foi praticada lesão no lado oposto.

Apesar de vários animais serem mantidos muitos dias em estudo, poucos foram os que apresentaram supuração no local operado; mesmo nos casos em que este processo ocorria ele era geralmente discreto, não prejudicando a evolução da preparação. Não foram empregados antibióticos ou quimioterápicos em animal algum.

Praticamente todos os animais em preparação crônica ficavam incapazes de alimentar-se por si mesmos durante alguns dias. Por este motivo houve necessidade de alimentá-los mediante sonda gástrica, introduzindo, duas vezes ao dia, 6 a 8 ml de leite de vaca a 10% acrescido de sacarose e carbonato de cálcio; esta última substância foi adicionada em virtude de vários animais apresentarem diarreia quando recebiam apenas leite açucarado.

Lesões — Para a análise das manifestações eletrofisiológicas corticais conseqüentes a lesões da formação reticular mesencefálica fizemos destruições parciais ou totais e uni ou bilaterais da referida estrutura.

As lesões foram feitas eletroliticamente mediante corrente contínua (3,5 a 4,5 mA) aplicada durante 5 a 10 s entre um eletrodio ativo, implantado na área a ser lesada, e outro indiferente preso à borda da incisão cutânea. O catódio da fonte era ligado ao eletrodio ativo. Este era feito de fio de aço inoxidável n.º 20 isolado com camadas de verniz, exceto na extremidade distal, em forma de ponta com cerca de 0,5 mm de comprimento.

A movimentação do eletrodio ativo era feita estereotaxicamente, segundo o atlas de König e Klippel²¹, a fim de permitir a lesão de pontos escolhidos previamente conforme o tipo e a finalidade da preparação.

As coordenadas utilizadas para as lesões foram as seguintes: AP variou de 1,9 a 2,9 mm em diferentes animais; L foi fixada em 1,0 a 2,0 mm para a maioria dos animais (em 4 preparações foi feita também lesão a 3 mm da linha média); H, tomada a partir da superfície cortical, variou de 4,0 a 8,0 mm. O número de pontos lesados nas preparações agudas foi de 4 a 16 e, nas crônicas, de 2 a 9 de cada lado ou apenas de um dos lados, conforme se pretendesse uma preparação de cérebro isolado ou de hemisfério isolado. A área lesada correspondente a cada ponto onde se colocava o eletrodio media aproximadamente 1 a 2 mm de diâmetro.

* Em algumas preparações foi lesada apenas a porção mais rostródorsal do mesencefalo, incluindo a região da comissura posterior, dos colículos superiores e núcleos habenulares com as respectivas comissuras. Em outras, as lesões foram mais extensas, destruindo toda a formação reticular mesencefálica (tegmento do mesencefalo) e avançando até a porção rostral da protuberância. Em poucos animais as lesões foram praticadas acima da região da transição mesodiencefálica (AP 2,5 a 2,9), destruindo tanto estruturas mesencefálicas como diencefálicas. As formações diencefálicas mais comumente destruídas nestes casos foram as seguintes: núcleo pré-tectal; porção posterior dos núcleos parafascicular, ventral, posterior e lateral; núcleo subtalâmico; porções da zona inverta e dos campos de Forel. As lesões que comprometiam extensamente o mesencefalo, avançando também em direção ao diencefalo e protuberância, foram feitas exclusivamente em preparações agudas, pois eram, em geral, incompatíveis com a sobrevivência dos animais além de 24 a 48 horas. Nas lesões mais extensas, além da formação reticular, praticamente todas as estruturas do mesencefalo eram destruídas.

Nas preparações crônicas as lesões eram menos amplas, pois, quando muito extensas, principalmente se feitas bilateralmente, era grande a mortalidade dos animais. Para efeito de análise, contudo, aproveitamos apenas as preparações em que a destruição da formação reticular foi considerada suficiente. Em alguns

animais lesamos especificamente a região ventromedial do tegmento mesencefálico (área tegmental ventral de Tsai); tais preparações foram feitas visando principalmente ao estudo da fase paradoxal do sono.

Quando as lesões eram feitas em apenas uma das metades do tegmento mesencefálico (hemisfério isolado), estas podiam ser bem amplas, pois os animais sobreviviam muito mais facilmente do que com lesões bilaterais.

Registro — O registro da atividade elétrica cortical foi feito com um polígrafo Beckman de 4 canais. Nas preparações agudas um dos canais registrava o eletrocardiograma, enquanto os demais eram ligados aos eletrodos bipolares colocados sobre a dura-máter. Nas preparações crônicas um dos canais registrava o EMG cervical, enquanto outros dois eram ligados aos eletrodos implantados nas áreas 2 de Krieg. A ampliação dos sistemas era escolhida de acordo com a voltagem de cada derivação no momento do registro. A constante de tempo de cada canal era ajustada de modo a não permitir a interferência de oscilações indesejáveis de baixa frequência. Raramente era utilizada filtragem para frequências altas. A velocidade do papel era mantida a 5 ou 10 mm/s, mas os fenômenos significativos eram registrados a 25, 50 ou 100 mm/s.

Durante o registro nas preparações agudas o animal, fixado ao aparelho estereotáxico, era mantido dentro de uma câmara de Faraday. Nas preparações crônicas os ratos eram colocados, em algumas sessões, no interior de pequena câmara de Faraday dotada de serpentina de polietileno sob o fundo, que permitia a variação da temperatura pela passagem de água aquecida. Esta câmara era também isolada acústica e termicamente para possibilitar a análise do sono espontâneo. Em outras sessões o animal permanecia dentro de pequena gaiola comum colocada dentro da câmara de Faraday.

Nas preparações agudas o registro era feito durante 2 a 4 horas, sendo mantido entre as condições do animal fossem satisfatórias. Nas preparações crônicas o número e a frequência dos registros dependiam das modificações observadas na atividade elétrica cortical. Nos primeiros dias eram feitos uma ou mais vezes cada 24 horas; à medida que a atividade cortical tendia a se tornar constante, o registro era feito cada 2 dias ou mesmo mais. A duração de cada sessão também dependia do tipo de preparação e do que se pretendia analisar. Para a observação das fases do sono espontâneo a sessão se prolongava usualmente por 2 a 3 horas; caso contrário o registro era feito durante 1 a 2 horas.

Contrôle histológico das lesões — Todos os animais foram estudados do ponto de vista histológico para controle das lesões praticadas. Após o término das experiências o animal era sacrificado mediante doses letais de barbitúrico ou éter. Alguns animais em preparação crônica morreram espontaneamente, sendo também examinados histologicamente. O animal era colocado no aparelho estereotáxico e seu cérebro exposto totalmente; com uma lâmina cortávamos uma fatia, delimitada estereotaxicamente, 2 mm atrás e à frente das áreas nas quais quisera implantar o eletrodo para a lesão. A fatia assim obtida era colocada em solução de formol a 4%. Depois de fixada durante 24 a 48 horas, iniciava-se o processo de desidratação e, a seguir, de inclusão em parafina. Eram feitos, então, cortes de 25 μ , sendo estes corados pelo método de Weil.

Descreveremos, a seguir, algumas particularidades da metodologia empregada para o estudo dos diversos aspectos focalizados neste trabalho.

A. Características eletrofisiológicas da atividade do córtex dorsolateral do cérebro isolado — Para tal estudo foram utilizados 44 animais: 37 em preparação aguda, um em preparação aguda com lesão prévia da formação reticular e 6 em preparação crônica. Todos os ratos analisados neste grupo tinham lesão bilateral da formação reticular mesencefálica.

Nos animais em preparação aguda o crânio ou era amplamente aberto, expondo-se todo o córtex de uma das metades da superfície dorsolateral do cérebro (23 ratos), ou eram feitas pequenas craniectomias bilateralmente sobre as áreas 2 (14 ratos), através das quais se introduziam os eletrodos para registro do ECoG. Nas

preparações crônicas os eletródios de registro eram implantados nas áreas 2 de Krieg, através de craniectomias de pequenas dimensões feitas simetricamente.

Neste grupo de experiências foram analisadas a forma, duração, frequência, periodicidade, voltagem e simetria dos fusos, das ondas lentas e da atividade dessincronizada.

B. Distribuição topográfica dos fusos na superfície do córtex dorsolateral do cérebro isolado — Para este estudo foram utilizados 23 animais em preparação aguda com lesão bilateral da formação reticular mesencefálica. Todo o osso que recobre uma das metades da superfície dorsolateral do cérebro era retirado e sobre ela colocados 3 eletródios bipolares para registro da atividade elétrica de pontos predeterminados. Antes da destruição da formação reticular fazia-se um traçado de controle, inclusive provocando reação de alerta por pinçamento da cauda do animal, a fim de testar as condições da preparação. Logo após a lesão, e outras vezes durante a experiência, repetíamos a estimulação dolorosa para termos certeza de que não havia dessincronização do ECoG. Estes cuidados eram tomados para que tivéssemos garantia de que a destruição da formação reticular havia sido completa.

Em alguns animais foram exploradas poucas áreas corticais, porém de maneira prolongada, visando a observar as modificações temporais da configuração eletrofisiológica do cérebro isolado. Em outros, os eletródios eram deslocados cada 5 ou 10 minutos, a fim de estudar o maior número possível de áreas na mesma preparação. O maior número de pontos explorados no mesmo animal foi 22. Em todos os casos deixávamos um par de eletródios fixado permanentemente em uma área na qual de antemão sabíamos haver fusos (área monitora); os outros 2 pares eram mudados de posição de tempos em tempos, comparando-se os resultados com os da área monitora. As áreas escolhidas para monitoras eram geralmente a 2 e a 10 de Krieg.

O número de pontos explorados em cada área variou conforme sua extensão e com a maior ou menor facilidade de acesso. Assim, por exemplo, nas áreas 2, 10 e 17 foram explorados, respectivamente, 20, 26 e 34 pontos. Em áreas mais restritas o número de pontos explorados foi obviamente menor; nas áreas 1, 6 e 39, por exemplo, foram pesquisados, respectivamente, 4, 6 e 5 pontos. Nas áreas em que repetidamente não se encontravam fusos, como nas límbicas, o número de pontos explorados foi proporcionalmente maior. Assim, nas áreas 23, 24, 29b e 29c exploramos, respectivamente, 10, 11, 6 e 21 pontos.

O número de animais utilizados para analisar a mesma área também não foi homogêneo. Assim para o estudo das áreas 2, 10, 17 e 18a empregamos, respectivamente, 16, 11, 10 e 8 ratos. Para a exploração minuciosa das áreas límbicas foram empregados 10 animais.

C. Hemicérebro isolado — Neste grupo de experiências foram empregados 24 ratos, assim distribuídos: 12 em preparação aguda, 4 em preparação aguda com lesão prévia da formação reticular e 8 em preparação crônica. Destes últimos, em 7 foi feita exclusivamente lesão de uma das metades do mesencéfalo e, em um, a esta se seguiu, após 6 dias, a lesão da outra metade.

As lesões nos animais deste grupo foram feitas de modo a destruir totalmente apenas uma das metades da formação reticular. O número de pontos lesados variou de 9 a 16. Tanto nas preparações agudas, com nas crônicas, os eletródios para registro do ECoG eram implantados, através de pequenas craniectomias simétricas, nas áreas 2 de Krieg.

Foram analisados nas preparações de hemicérebro isolado, além de suas peculiaridades, os mesmos aspectos mencionados no item A.

RESULTADOS

A. Características eletrofisiológicas da atividade do córtex dorsolateral do cérebro isolado.

Nas preparações agudas a configuração eletrofisiológica típica do cérebro isolado não era, em geral, observada imediatamente após a lesão da formação reticular

mesencefálica. Sômente 10 a 20 minutos depois é que ela surgia, substituindo de maneira gradativa uma atividade cortical comumente constituída por ondas lentas de baixa voltagem. Com certa freqüência no decorrer do registro notava-se depressão, por vêzes intensa, da atividade cerebral, que durava alguns minutos, retornando depois ao aspecto anterior. Essa depressão era geralmente bilateral, embora se iniciasse em um dos hemisférios, surgindo no outro poucos segundos depois. Em alguns dos animais a depressão era de tal intensidade a ponto de, praticamente, desaparecer por completo a atividade elétrica cortical durante vários minutos. Nas preparações crônicas o primeiro registro era feito sômente 30 ou 40 minutos após a lesão e se apresentava desde o início constituído por fusos e ondas lentas (anestesia com tiobarbitúrico), não sendo comumente observados períodos de depressão.

A preparação cérebro isolado caracteriza-se, eletrofisiologicamente, pela associação em graus variados dos seguintes elementos: 1) fusos; 2) ondas lentas; 3) atividade dessincronizada; 4) espículas.

1. *Fusos* — Para efeito de análise consideramos fusos puros as seqüências regulares de potenciais, em contraposição aos fusos complexos, que resultam da composição de mais de um fuso puro. Nestes últimos a identificação dos constituintes fundamentais de freqüência, duração, polaridade e voltagem é geralmente difícil ou, mesmo, impossível. Algumas vêzes, contudo, a defasagem entre os componentes de um fuso complexo permite que se identifique bem pelo menos um deles.

A denominação de fuso para a manifestação eletrofisiológica que ora estudamos é genérica, pois nem sempre os surtos de potenciais assim chamados assumem, no conjunto, o aspecto de um fuso (Fig. 5). Geralmente cada fuso se inicia com potenciais de baixa voltagem, cresce progressivamente, atinge o máximo e, depois, decresce até que subsista exclusivamente a atividade basal.

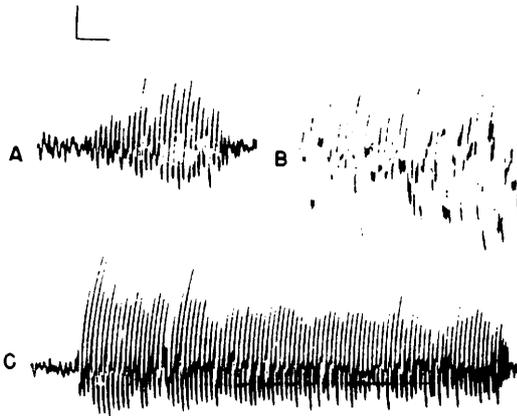


Fig. 5 — Formas de fusos: em A, fuso puro registrado na área 10; em B, fuso complexo registrado na área 18; em C, "fuso retangular". Calibração: 50 μ V e 1s.

Na preparação cérebro isolado predominam nitidamente os fusos complexos. É relativamente comum que um surto se inicie como puro e depois se torne complexo em virtude da composição com outros potenciais. É comum também observar-se fusos que se interrompem bruscamente, abreviando-se em relação aos antecedentes ou subseqüentes. Quanto ao número de potenciais que formam cada fuso, existe grande variabilidade, havendo fusos breves, constituídos por poucos potenciais, e outros longos. Outras vêzes os fusos se fundem em seqüências contínuas e prolongadas.

Nas preparações agudas os estímulos dolorosos intensos aplicados em qualquer parte do corpo do animal, assim como pulsos elétricos aplicados na região

destruída da formação reticular mesencefálica, são ineficazes para bloquear os fusos (fig. 6). Em preparações crônicas tal fato pode não ocorrer.

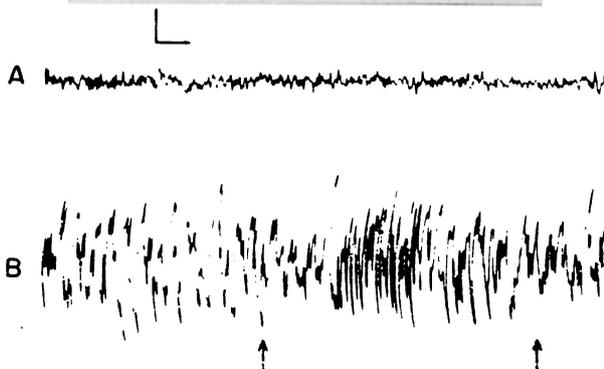
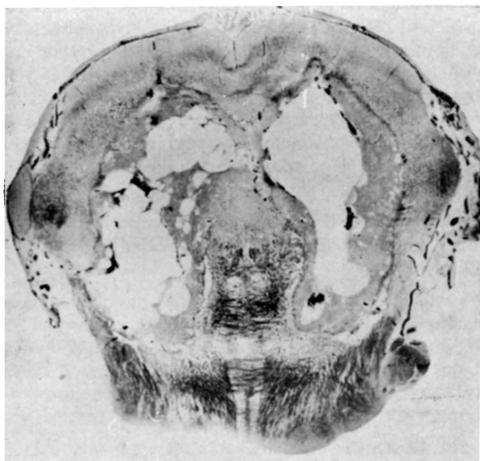


Fig. 6 — Em cima fotografia de lesão bilateral da formação reticular mesencefálica (preparação aguda). Em A, o ECoG registrado na área 2 antes da lesão; em B, o registro na mesma área, feito depois da lesão, mostra-se nitidamente sincronizado, não havendo dessincronização pela estimulação dolorosa da cauda (indicada pelas setas). Calibração: 50 μ V e 1s.

Os potenciais que constituem um fuso podem ser mono ou bifásicos. Um mesmo fuso pode apresentar potenciais monofásicos positivos e negativos, assim como potenciais bifásicos com um componente positivo seguido de outro negativo, ou vice-versa. No entanto é mais comum que, na mesma área, seja observado um só tipo de potencial. Nos potenciais bifásicos a voltagem do primeiro componente é maior que a do segundo e sua duração é menor, do que resulta sua forma caracteristicamente aguda.

A duração dos potenciais monofásicos, ou do primeiro componente dos bifásicos, medidos na base da onda, varia geralmente de 20 a 80 ms, tanto em preparações aguda como crônicas. Excetuados os valores ao redor de 25 e de 65 ms, a distribuição é mais ou menos homogênea em toda a faixa mencionada (fig. 7). Em casos raros encontramos potenciais de fuso com duração de 120 ou mesmo de 160 ms.

A duração dos potenciais independe da polaridade, da posição na seqüência do fuso e da voltagem. No entanto, raramente a duração de todos os potenciais de um mesmo fuso é idêntica. Por outro lado, a duração depende do grau de composição dos potenciais, sendo tanto maior quanto mais complexo for o fuso.

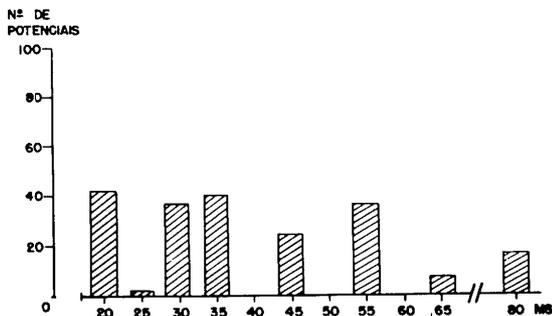


Fig. 7 — Histograma mostrando os valores da duração de 200 potenciais de fuso. Observa-se que, excetuados os valores ao redor de 25 e de 65 ms, a distribuição é mais ou menos homogênea na faixa de 20 a 80 ms.

Nos fusos puros a voltagem aumenta regularmente a partir do primeiro potencial, atinge o máximo e depois decresce. Nos fusos complexos tal regularidade não existe, havendo potenciais com amplitudes variáveis em qualquer posição da seqüência. A amplitude máxima depende da área cortical na qual se registra o fuso, podendo atingir 400 μ V ou até mais.

Mesmo nos fusos mais regulares não nos foi possível demonstrar relação definida entre a voltagem do primeiro potencial e a voltagem máxima atingida na série, nem a posição do potencial mais amplo do fuso. Entretanto, em quase todos os fusos puros o crescimento atinge o máximo antes do décimo potencial. A figura 8 mostra a amplitude dos potenciais de um fuso em função do potencial máximo e de sua posição na seqüência. Pelos gráficos verifica-se que geralmente o primeiro potencial já representa fração importante do máximo da série. No entanto, a dispersão a partir desse valor inicial é muito acentuada (Fig. 9).

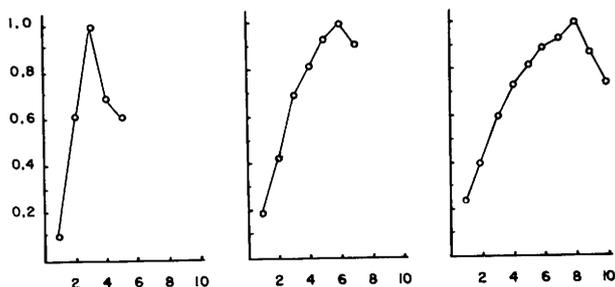


Fig. 8 — Exemplos de curvas de variação da amplitude dos potenciais em função da posição na seqüência. Cada ponto representa a amplitude relativa ao de maior voltagem, cuja amplitude é igual a 1. No eixo das abscissas, posição dos potenciais; no eixo das ordenadas, amplitude relativa.

Tanto nas preparações agudas, como nas crônicas, a freqüência dos fusos variou entre os limites de 5 a 18 Hz. Na maioria das vezes foram encontrados valores de 6 a 12 Hz. A variação da freqüência não só é observada em fusos de áreas diferentes ou de animais diversos, como também no mesmo animal e na mesma área. Os intervalos entre os potenciais consecutivos de um mesmo surto também não são uniformes, mostrando que a freqüência se altera inclusive durante o processamento do fuso. A variação de freqüência nos fusos complexos é muito maior que nos puros, podendo, em alguns casos, dobrar de um instante para o seguinte.

Os fusos ora se apresentam em surtos isolados, separados por períodos de atividade com características diversas, ora como potenciais contínuos mais ou menos

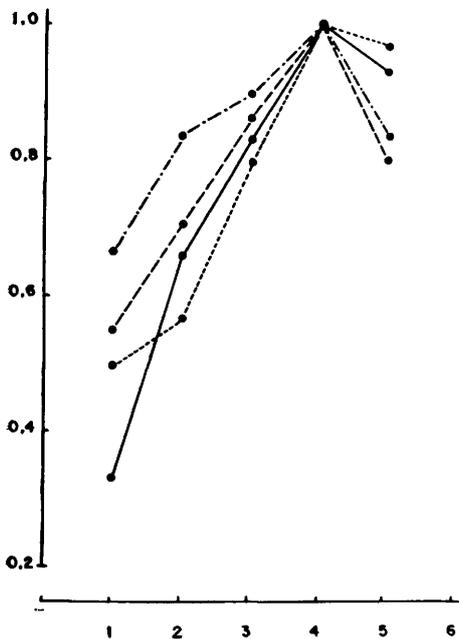


Fig. 9 — Amplitude relativa dos potenciais de 4 fusos quase consecutivos, cujo potencial máximo foi o quarto. Nota-se que a dispersão do valor inicial é muito acentuada.

mesclados com ondas lentas ou rápidas. Quando isolados os fusos mostram periodicidade oscilante. Por vezes evoluem durante vários minutos com a mesma periodicidade (número de fusos por minuto), após os quais esta se eleva ou diminui bruscamente. Da mesma forma, registros simultâneos de áreas corticais próximas mostram, com freqüência, evolução completamente independente da intermitência dos fusos (fig. 10). A variação da intermitência, observada tanto nas preparações agudas como nas crônicas, foi de 1 a 15 fusos por minuto, sendo mais comumente encontrados valores de 5 a 10. Numa mesma área e, à medida que a periodicidade sobe, há, também, aumento da voltagem dos fusos.

Raramente existe simetria nos traçados obtidos de áreas corticais homólogas na preparação cérebro isolado. Na maioria das vezes é a voltagem que difere nos dois lados; contudo, com certa freqüência, observa-se também assimetria em relação às demais características eletrofisiológicas (Fig. 11).

2. *Ondas lentas* — Na preparação cérebro isolado estas ondas constituem manifestação eletrofisiológica importante e, muitas vezes, preponderante. Em preparações agudas elas podem constituir o único tipo de atividade elétrica detectável em certas áreas corticais. De acordo com a freqüência, as ondas lentas encontradas em nossas preparações podem ser classificadas como *ondas delta* e *teta*.

As *ondas delta* apresentam-se com freqüência de 1 a 4 Hz, duração de 250 a 1.000 ms e amplitude de 30 a 450 μ V; os valores mais comumente encontrados foram os de 1,5 a 2,5 Hz, 400 a 600 ms e 100 a 200 μ V, respectivamente. Em todas as áreas do córtex dorsolateral do cérebro do rato estas ondas foram registradas e, aparentemente, suas características independem da região explorada. Porém, como tais ondas se alternam ou se mesclam com os fusos, obviamente elas são menos numerosas nas áreas em que estes são mais abundantes.

Como as ondas delta eram mais conspícuas nas preparações agudas e durante os primeiros dias das crônicas, tornou-se necessário excluir a possibilidade de que elas fôssem devidas ao edema cerebral conseqüente ao ato operatório. Com essa

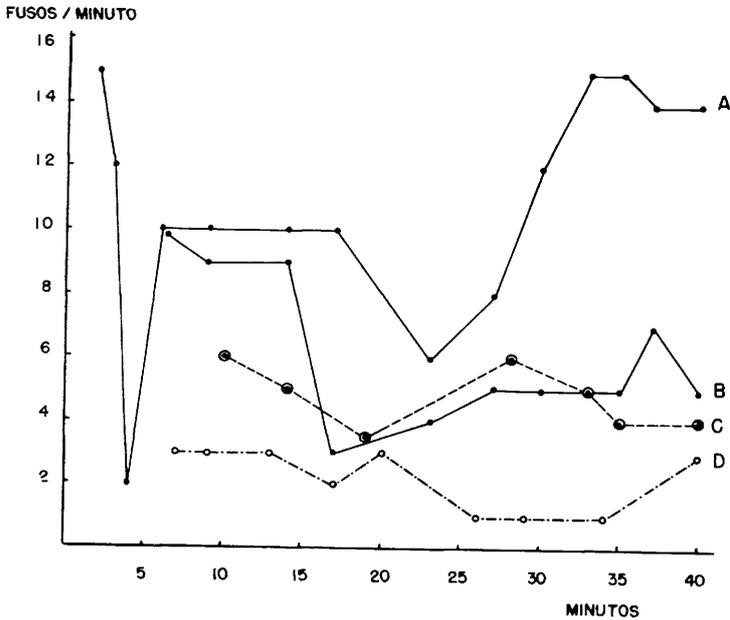


Fig. 10 — Curvas de intermitência dos fusos observados em três ratos. A e B representam as variações encontradas no mesmo animal, no qual foram feitos registros simultâneos das áreas 2 e 4, respectivamente; notar que os fusos não surgem ao mesmo tempo nas duas áreas. C e D mostram a evolução da intermitência dos fusos registrados na área 2 de outros dois animais.

finalidade utilizamos solução de manitol a 20%, injetada por via intravenosa na dose de 1 a 2 ml por 100 g. Em nenhum animal no qual foi empregada a referida substância desidratante houve desaparecimento das ondas delta, demonstrando-se, assim, serem elas independentes do edema cerebral porventura existente.

As ondas delta associam-se de diversas maneiras com os potenciais de fuso: algumas vezes elas ocorrem preferentemente entre os surtos de fusos consecutivos, podendo também compor-se com os potenciais dos fusos, deformando-os acentuadamente; outras vezes ocorrem continuamente, mesclando-se e compondo-se com os potenciais de fusos também contínuos; finalmente, pode haver acoplamento de uma onda lenta, geralmente bifásica, com o primeiro potencial de um fuso, formando o complexo de onda-fuso (Fig. 12).

Dos 10 ratos em preparação aguda utilizados para a exploração das regiões corticais límbicas (áreas 23, 24, 29b e 29c), em 6 foram observadas onda teta localizada exclusivamente nessas áreas.

As ondas teta nessas preparações apresentavam frequência de 4 a 7 Hz e amplitude muito variável. Em 3 animais estas ondas estavam mescladas e compostas com ondas delta; nos outros 3 a atividade teta era pura e contínua. Nestas últimas preparações sua frequência era de 5 Hz e a amplitude de 25 a 30 μ V (fig. 13).

3. *Atividade dessincronizada* — Mesmo nas preparações agudas de cérebro isolado observam-se períodos de dessincronização no traçado eletrocorticográfico. Geralmente estes períodos são de poucos segundos, durante os quais a atividade sincronizada é substituída por oscilações rápidas (20 a 40 Hz) e de baixa amplitude (10 a 30 μ V). Frequentemente esta atividade aparece simultaneamente nos dois

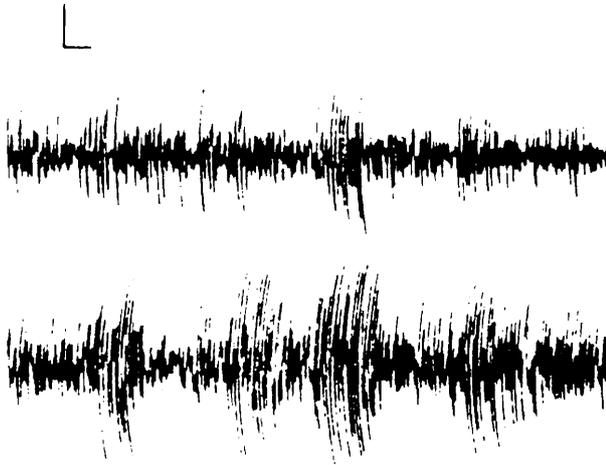


Fig. 11 — Fusos registrados em áreas corticais homólogas (área 10). Observa-se nítida assimetria dos traçados, não só em relação à voltagem dos potenciais, mas também no que se refere à sua ocorrência no tempo (assincronia) Calibração: 100 μ V e 1s.

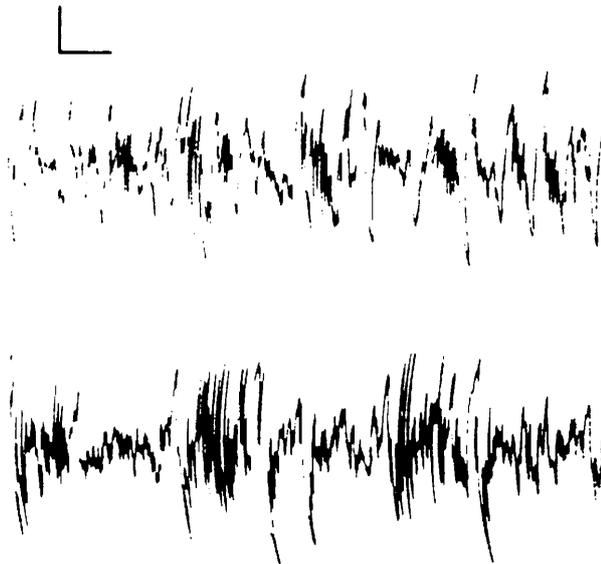


Fig. 12 — Complexos de onda-fuso registrados na área 2. O traçado superior foi obtido de uma preparação aguda e o inferior de uma crônica (3.º dia). Calibração: 50 μ V e 1s.

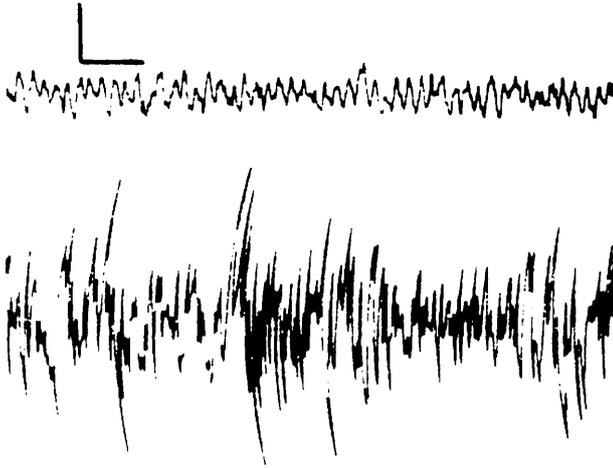


Fig. 13 — No traçado superior, ritmo teta regular na área 29c de uma preparação aguda de cérebro isolado. No traçado inferior, registro simultâneo obtido na área 10, mostrando ondas delta e fusos. Calibração: $50\mu V$ e 1s.

hemisférios cerebrais, mas pode também ocorrer apenas em um dos lados. Comumente não se observa relação entre a dessincronização e a aplicação de estímulos sensoriais aos animais, pois mesmo quando estes são reiteradamente ineficazes para produzir reação de alerta, a atividade dessincronizada pode ocorrer espontaneamente no ECoG.

4. *Espículas* — Em número reduzido de preparações agudas e, mais raramente ainda, nas crônicas, foram observadas espículas no ECoG. Em geral tratava-se de preparações com lesões uni ou bilaterais extensas da formação reticular mesencefálica, invadindo inclusive a região mais posterior do tálamo. Nestas preparações, de regra predominavam as ondas lentas e os fusos eram raros. As espículas ocorriam esporadicamente, sem tendência ao agrupamento, predominando no hemisfério cerebral correspondente à metade da formação reticular mais extensamente lesada ou eram muito mais evidentes desse lado. Quando as espículas ocorriam bilateralmente em geral se observava assincronia entre as descargas desses potenciais nos dois hemisférios (fig. 14).

B. *Distribuição topográfica dos fusos na superfície do córtex dorsolateral do cérebro isolado.*

Os fusos são muito mais numerosos e puros nas áreas frontoparietais (1, 2, 2a, 3, 4, 6, 7, 10, 39 e 40), mormente na 2 e na 10. Nestas duas últimas áreas seus potenciais apresentam as amplitudes mais elevadas, atingindo por vezes 300 ou 400 μV , e frequências de até 16 ou 18 Hz.

Nas áreas 17, 18 e 18a, que representam a área visual e ocupam a maior extensão da metade posterior da superfície dorsal do córtex cerebral do rato, os fusos ocorrem mais raramente, sendo quase sempre muito complexos. Tais fusos em geral exibem voltagem mais baixa que os das áreas anteriores (50 a 100 μV), oscilando sua frequência ao redor de 6 a 8 Hz. Nas áreas temporais (36 e 41) as características dos fusos são idênticas às dos registrados na área visual.

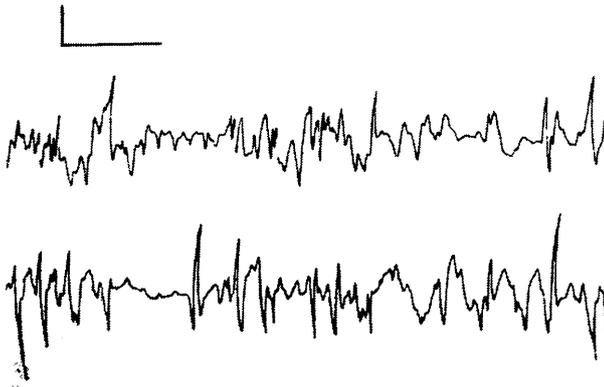


Fig. 14 — Preparação aguda de cérebro isolado com lesão bilateral extensa da formação reticular. Observam-se, em ambos hemisférios cerebrais, ondas lentas e espículas assíncronas. Calibração: $100\mu\text{V}$ e 1s.

Na áreas límbicas do córtex dorsolateral (23, 24, 29b e 29c) não se encontram fusos. Somente quando os eletrodos de registro eram colocados sobre zonas límbicas com áreas não límbicas, apareceram, algumas vezes, fusos. (fig. 15).

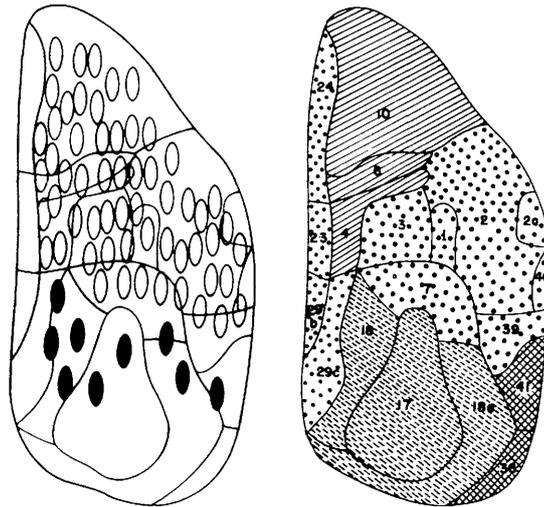


Fig. 15 — Distribuição topográfica dos fusos na superfície do córtex dorsolateral do cérebro isolado. Os fusos claros indicam os pontos nos quais foram registrados fusos predominantemente puros. Os escuros correspondem a fusos complexos.

C. Hemicérebro isolado.

Da mesma forma que nas preparações agudas com lesão bilateral da formação reticular mesencefálica, no hemicérebro isolado agudo as características eletrofisiológicas típicas somente surgiam de 10 a 20 minutos após a lesão. Até então, no hemisfério cerebral correspondente à metade destruída da formação reticular, eram observadas apenas ondas lentas de baixa amplitude; esta atividade ia sendo, depois, gradualmente substituída por fusos e ondas lentas de amplitude elevada. Durante o mesmo período de tempo, no hemisfério contralateral à lesão, geralmente predominavam ondas lentas, embora, às vezes, também se observassem ondas rápidas de amplitude baixa, modulando a atividade lenta.

Após a fase inicial de depressão nas preparações agudas, e nos primeiros dias das crônicas, o ECoG do hemisfério cerebral isolado apresentava-se sincronizado, com fusos e ondas lentas associados em graus variáveis, enquanto no lado oposto a atividade era dessincronizada, rápida e de baixa voltagem (fig. 16). Com fre-

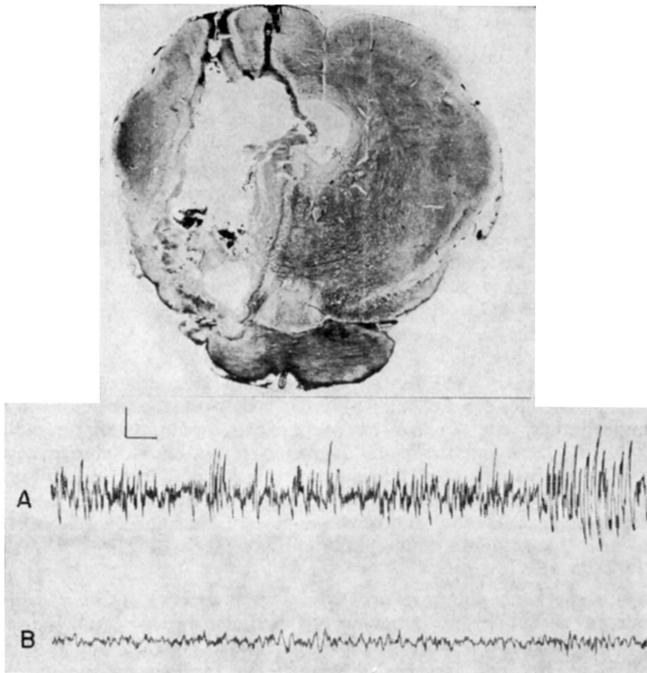


Fig. 16 — Em cima, fotografia de uma lesão unilateral da formação reticular mesencefálica (preparação aguda). Em A observa-se o ECoG registrado na área 2 do hemisfério correspondente ao lado lesado e em B, o traçado feito simultaneamente na área homóloga. Calibração: 50 μ V e 1s.

quência, no decorrer da experiência o animal adormecia; nestas condições o ECoG se tornava sincronizado bilateralmente. Mesmo assim, contudo, o número de fusos, e às vezes também sua voltagem, quase sempre eram maiores no hemisfério cerebral correspondente à metade lesada do mesencéfalo; ao contrário, a regularidade e pureza dos fusos eram geralmente maiores no hemisfério cerebral contralateral à lesão. Estímulos dolorosos praticados nessas ocasiões provocaram dessincroniza-

ção efêmera no ECoG do hemisfério cerebral isolado e prolongada no hemisfério contralateral. Em algumas preparações a dessincronização ocorria exclusivamente no hemisfério cerebral oposto à lesão (fig. 17).

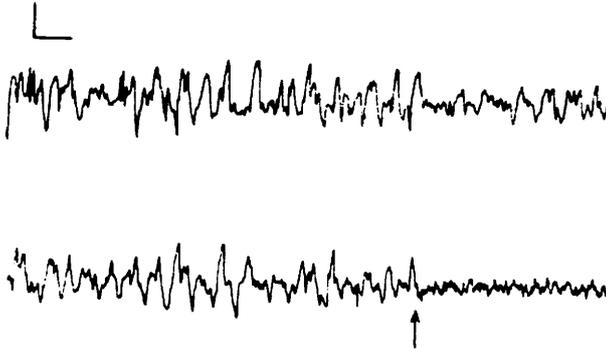


Fig. 17 — Preparação aguda de hemicérebro isolado. O traçado superior corresponde ao hemisfério cerebral isolado, e o inferior ao hemisfério contralateral; a seta indica a aplicação de um estímulo doloroso na cauda do animal. Nota-se dessincronização prolongada do ECoG do hemisfério contralateral à lesão, enquanto no hemicérebro isolado esta é efêmera e menos nítida. Calibração: $50\mu V$ e 1s.

Procuramos determinar os limiares de resposta dos dois hemisférios cerebrais a estímulos elétricos aplicados às duas metades da formação reticular mesencefálica. Para tanto entregamos, em 5 casos de preparação aguda, corrente elétrica de 100 Hz, 0,1 ms e 0,4 a 8 V. A excitação da formação reticular do lado intacto provocava dessincronização bilateral do ECoG, mas muito mais evidente e prolongada no hemisfério ipsilateral. A estimulação do lado lesado (abaixo do nível de lesão) produzia também dessincronização bilateral com as mesmas características. O limiar, contudo, era ligeiramente mais baixo quando se estimulava a metade íntegra do mesencéfalo (fig. 18).

De maneira semelhante ao que ocorre nas preparações agudas com lesão bilateral da formação reticular, no hemicérebro isolado agudo também se encontram períodos de dessincronização espontânea que, em geral, duram poucos segundos, mas podem prolongar-se por mais de um minuto. São também observadas nestas preparações fases de depressão da atividade elétrica cortical, uni ou bilateralmente, que duram alguns minutos e podem repetir-se várias vezes na mesma experiência. Nos animais em preparação crônica tais fases de depressão foram observadas muito raramente e, em geral, logo após a lesão.

A forma, duração, voltagem, polaridade, freqüência e intermitência dos fusos na preparação hemicérebro isolado são praticamente as mesmas descritas no cérebro isolado. O mesmo ocorre com as ondas delta, com a atividade sincronizada e espículas. No hemicérebro isolado, contudo, não foram exploradas as áreas límbicas e, portanto, não sabemos se lá ocorrem também ondas teta como nas preparações com lesão bilateral da formação reticular mesencefálica.

Como descrevemos anteriormente, no hemisfério cerebral contralateral à lesão a atividade elétrica é geralmente dessincronizada (30 a 40 Hz, 10 a 20 μV), en-

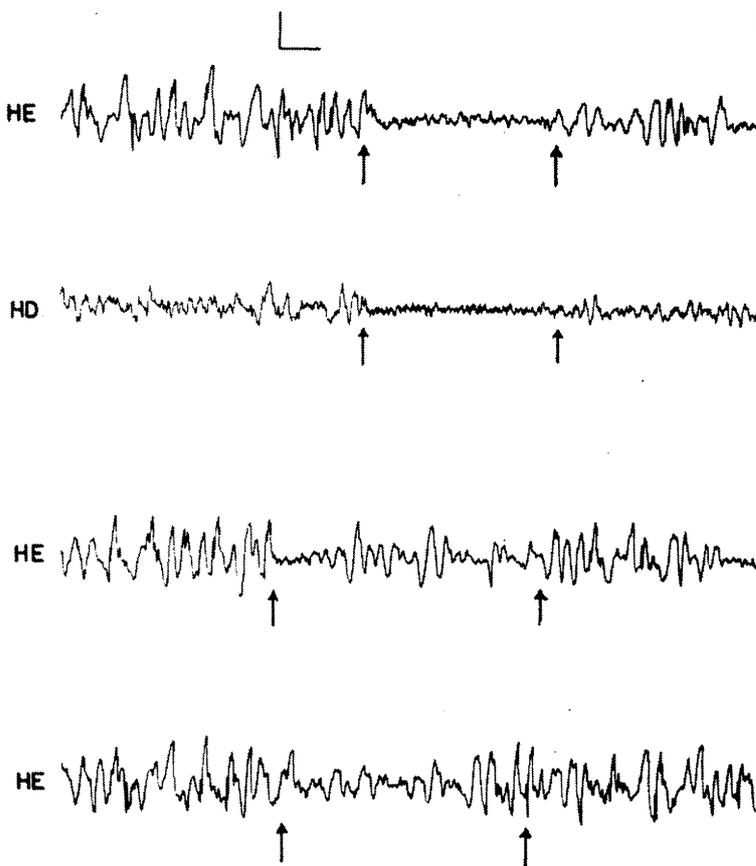


Fig. 18 — Preparação aguda de hemicérebro isolado (lesão da metade esquerda da formação reticular). Nos dois traçados superiores observa-se o efeito de estímulos de 4 V aplicados à metade esquerda da formação reticular: no HE (hemicérebro isolado) a dessincronização é menos prolongada que no HD. Nos dois traçados inferiores observa-se o efeito de estímulos de 1 V sobre o ECoG do hemisfério cerebral isolado (HE): quando aplicados à metade intacta da formação reticular (terceiro traçado) o efeito é mais intenso que quando aplicados à metade lesada (quarto traçado). Calibração: 50 μ V e 1s.

quanto o animal se mantém em alerta. Quando está sonolento ou em sono superficial aparecem também fusos neste hemisfério. Tais fusos comumente apresentam periodicidade mais baixa que os do lado lesado, sendo, contudo, mais puros e regulares que aqueles. Em virtude de serem menos complexos, os potenciais destes fusos apresentam, em geral, menor duração que os do lado lesado (20 a 40 ms). Em fases mais profundas do sono surgem ondas lentas de grande amplitude no hemisfério cerebral não isolado, mesclando-se e compondo-se com os potenciais de

fuso, o que os torna muito complexos. No hemisfério cerebral isolado também as ondas lentas ficam mais numerosas, acentuando ainda mais a complexidade de seus fusos. (fig. 19).

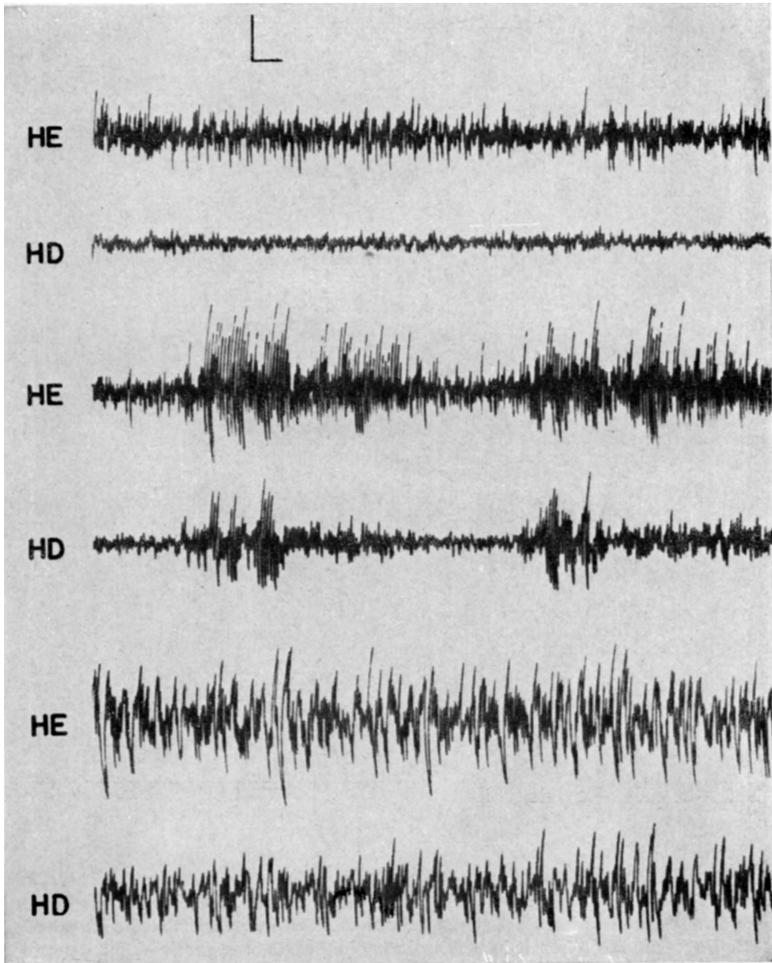


Fig. 19 — Preparação crônica de hemicérebro isolado (lesão da metade esquerda da formação reticular mesencefálica). Nos dois traçados superiores o animal está em alerta, observando-se nítida assimetria do ECoG dos dois hemisférios cerebrais. Nos dois traçados seguintes o rato está em sono superficial, surgindo fusos também no hemisfério direito. Nos dois traçados inferiores o animal está em sono sincronizado profundo, não havendo praticamente diferença na configuração dos traçados dos (quarto traçado). Calibração: 50 μ V e 1s.

Em 4 dos 24 ratos nos quais foi destruída uma das metades da formação reticular mesencefálica (16,6%), os fusos encontrados no ECoG eram constituídos pela sucessão regular de uma espícula e de uma onda lenta (complexo espícula-onda). Tratava-se de duas preparações agudas e duas crônicas; nestas últimas, tal carac-

terística se manteve durante 5 e 6 dias. Nas preparações agudas os complexos de espícula-onda desapareceram após a administração intravenosa de pequenas doses de pentobarbital, dando lugar a potenciais lentos de fuso (80 a 100 ms). Numa das preparações crônicas as espículas-ondas também desapareceram quando, após 6 dias, fizemos lesão da outra metade da formação reticular; desde então os fusos passaram a apresentar as características habitualmente observadas na preparação cérebro isolado. O outro animal em preparação crônica morreu 5 dias depois da lesão de uma das metades do mesencéfalo, ao se praticar a destruição eletrolítica da outra metade.

Em todos os animais os complexos de espícula-onda eram bilaterais, embora mais evidentes no hemisfério cerebral isolado, onde os potenciais espiculares eram mais amplos e regulares. No lado oposto, em geral sincronicamente com os surtos de espículas-ondas do hemisfério cerebral isolado, ocorriam quase sempre ondas lentas e raras espículas. Algumas vezes, no entanto, apareciam, também neste hemisfério, complexos de espícula-onda nítidos, mas geralmente com voltagem bem menor que os do lado correspondente à lesão da formação reticular.

No hemisfério cerebral isolado, onde a manifestação era mais regular, as espículas apresentavam sempre curta duração (15 a 30 ms) e eram agudas e amplas (100 a 250 μ V). As ondas lentas, com amplitude muito irregular, exibiam duração também variável (60 a 120 ms). As ondas lentas comumente precediam ao aparecimento das espículas, desaparecendo sempre depois delas (fig. 20).

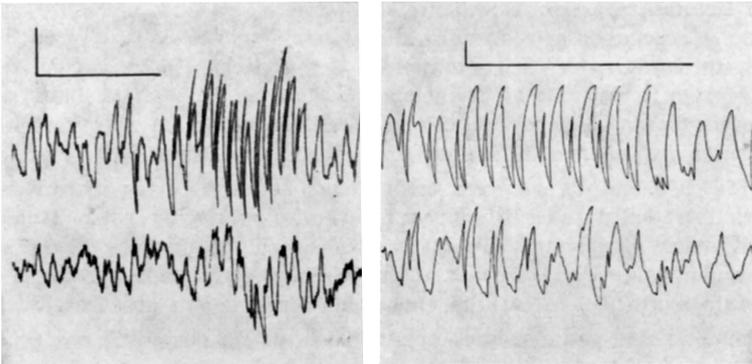


Fig. 20 — Complexos de espícula-onda observados em preparação aguda de hemicérebro isolado. No traçado superior observa-se o ECOG do hemisfério correspondente ao lado lesado do mesencéfalo e, no inferior, o do hemisfério oposto. À esquerda o registro foi feito com velocidade menor. Notar que as ondas lentas se antecipam às espículas e desaparecem depois delas e que a manifestação é mais nítida no hemisfério correspondente à lesão da formação reticular. Calibração: 50 μ V e 1s.

COMENTÁRIOS

Os fusos ocorrem espontaneamente durante o sono fisiológico ou podem ser provocados artificialmente pela ação de certas drogas (como os barbitúricos), pela estimulação dos núcleos não específicos do tálamo ou pela destruição da formação reticular da parte alta do tronco cerebral. Obviamente, deve-se admitir a existência de uma causa comum para explicá-los nessas quatro eventualidades. Após o trabalho de Moruzzi e Magoun²⁸ firmou-se o conceito de que a atividade elétrica do córtex cerebral observada

durante o sono era decorrente do bloqueio da formação reticular mesencefálica. Morison e Dempsey²⁶ e Jasper¹⁷, dentre outros, demonstraram que a estimulação a baixa frequência dos núcleos talâmicos mediais e intralaminares produzia potenciais corticais muito semelhantes aos fusos barbitúricos e espontâneos. Êstes fatos conduziram à hipótese de que a sincronização do ECoG observada durante o sono era devida à liberação do sistema de recrutamento talâmico da influência inibidora do sistema reticular ativador. O bloqueio de tal sistema, já previsto por Moruzzi e Magoun, foi definitivamente comprovado por French, Verzeano e Magoun¹³.

Embora se admita antagonismo de ações entre a formação reticular mesencefálica e o sistema talâmico não específico, não existem provas diretas e definitivas de tal fato. Krupp, Monnier e Stille²³, por exemplo, provocaram ativação do ECoG, injetando cafeína em preparações de cérebro isolado no coelho, concluindo que a dessincronização cortical era devida à inibição do sistema sincronizador do tálamo. Timo-Iaria e Werner verificaram que a dose limiar para produzir fusos no núcleo reticular do tálamo, no gato, é menor após a desaferentação do diencéfalo, enquanto o limiar para provocar respostas de recrutamento aumenta após injeção de metrazol, droga que ativa o sistema reticular ascendente. Scherrer e Hernández-Peón³⁶ observaram que a secção do mesencéfalo aumenta a excitabilidade dos núcleos talâmicos, tornando mais fácil a obtenção de potenciais de recrutamento. Da mesma forma, a injeção de pequenas quantidades de pentobarbital no rato facilita acentuadamente o aparecimento de respostas de recrutamento por estimulação dos núcleos talâmicos não específicos (Negrão²⁹).

Os fusos, portanto, parecem estar relacionados a certos mecanismos talâmicos, liberados durante o sono e bloqueados na vigília pelo sistema reticular ativador ascendente. Tais mecanismos são designados como sistema sincronizador talâmico, embora a organização, o significado preciso e o funcionamento exato das estruturas envolvidas ainda sejam obscuros.

A maioria dos pesquisadores aceita a identidade dos fusos observados no sono natural, na hipnose barbitúrica, na preparação cérebro isolado e nas respostas de recrutamento. Confrontando nossos resultados com os de Negrão, verificamos que a maioria das características eletrofisiológicas é comum aos fusos espontâneos, barbitúricos, da preparação cérebro isolado e das respostas de recrutamento. Sua variabilidade em função da área e do tempo, observada em tôdas as modalidades experimentais, ainda não pode ser convenientemente explicada. Andersen e col.^{2,3} utilizando microeletrodos implantados em várias regiões do tálamo do gato, observaram que existem circuitos do tipo marca-passo na gênese dos fusos e que tais marca-passo são muito pequenos, ocupando áreas não superiores a 150 ou 200 μ de diâmetro; segundo êstes fisiologistas há sincronismo entre estas áreas restritas do tálamo e outras bem circunscritas do córtex cerebral. A distância de um milímetro entre os eletrodos usados em nossas experiências para o registro do ECoG está acima do limite de resolução dêsses pequenos campos que, no rato, talvez sejam ainda menores. Êste fato poderia explicar, portanto, a variabilidade da duração, forma e frequência entre os fusos registrados em áreas relativamente próximas.

A composição dos potenciais individuais, originando fusos complexos, pode ser entendida admitindo-se a existência de marca-passos próximos. Como observou Negrão, o recrutamento pode evoluir de tal forma que dois fusos se desenvolvem segundo curvas diversas; outras ocasiões o estímulo provocava resposta dupla, cada uma com evolução própria. Nos fusos barbitúricos ou nos do sono natural, assim como no cérebro isolado, tais fatos são também observados, sugerindo que a estimulação elétrica do tálamo determina fenômenos corticais equivalentes aos operantes nos fusos.

A forma dos potenciais dos fusos encontrados nos quatro tipos de preparações é também muito semelhante. No recrutamento a deformação é mínima, ao passo que nas outras três modalidades ela se mostra mais acentuada, sobretudo nos fusos naturais e barbitúricos. A pequena deformação no primeiro caso pode ser facilmente compreendida considerando que, no recrutamento, grande número de elementos talâmicos é ativado em fase, provocando resposta quase simultânea dos neurônios corticais correspondentes.

A despeito da semelhança morfológica observada entre os potenciais de fusos, Spencer e Brookhart^{38, 39} demonstraram, no gato, que eles não são fenômenos singelos. Estudando potenciais de recrutamento³⁸ e preparações de cérebro isolado³⁹, estes pesquisadores notaram que existem dois tipos fundamentais de fusos, sendo um constituído por ondas "aumentantes" (tipo I) e outro por ondas de "recrutamento" (tipo II).

Os potenciais aumentantes se assemelham aos potenciais evocados, caracterizando-se por apresentarem uma onda positiva inicial breve, seguida de outra negativa de maior amplitude. O componente positivo mede aproximadamente 100 μ V e dura cerca de 20 ms; o negativo é mais amplo, durando também ao redor de 20 ms. O registro simultâneo dos potenciais em níveis intracorticais diversos mostra negatificação inicial nas camadas III e IV e descargas unitárias condensadas nas camadas III, IV e V durante a negatificação. Os potenciais de recrutamento manifestam-se como ondas inicialmente negativas, cuja duração pode alcançar 50 ms, seguidas de componente positivo. O registro intracortical revela negatificação inicial na camada I, provavelmente devida à despolarização graduada dos dendritos apicais. Ao contrário do que sucede durante a produção de uma onda do tipo I, não surgem descargas unitárias relacionadas com quaisquer de seus componentes ou, se ocorrem, são esporádicas e não agrupadas. Tanto no caso das ondas aumentantes como nas de recrutamento o gradiente inicial se inverte e as estruturas inicialmente negativas tornam-se positivas no final do fenômeno.

Além dos fusos dos tipos I e II, Spencer e Brookhart encontraram fusos mistos. Por vezes o registro de superfície é insuficiente para distingui-los, mas o intracortical permite estabelecer a diferença. Nos fusos mistos os potenciais do tipo I sempre precedem os do tipo II, o que sugere que a atividade responsável pelo primeiro possa gerar também o segundo. Salientam os referidos fisiologistas que os potenciais de recrutamento exibem as características dos fusos do tipo II, reforçando o conceito de que estes potenciais e os fusos têm relação causal. As experiências de Spencer e Brookhart indicam que a origem das ondas aumentantes é diversa da das ondas de recrutamento, apesar da associação freqüente entre ambas. Entretanto, Bishop, Clare e Landau⁶ verificaram que, no coelho, estes dois tipos de potencial se ocluem mutuamente, apresentando características de excitabilidade similares. Além disso, as ondas aumentantes não podem ser obtidas pela estimulação de nervos aferentes, o que demonstra não serem elas simples potenciais evocados.

Pelo fato de termos utilizado exclusivamente derivações bipolares para o registro da atividade elétrica cortical, não nos foi possível distinguir os potenciais aumentantes dos de recrutamento. Por outro lado, a discrepância existente entre os achados de Spencer e Brookhart e os de Bishop, Clare e Landau não nos autoriza a atribuir importância a tal distinção. Contudo, a julgar pela duração dos componentes positivo do primeiro e negativo do segundo, os dois tipos de potenciais descritos por Spencer e Brookhart ocorrem na atividade elétrica cortical do rato nas condições em que a estudamos. Segundo Negrão²⁹, a duração dos potenciais dos fusos barbitúricos e espontâneos, assim como das respostas de recrutamento, oscila entre 20 a 40 ms, sendo, portanto, semelhante à observada por Bradley e col.⁷ nas respostas de recrutamento induzidas por estimulação do núcleo dorsomedial do tálamo do rato. É possível que o fato de no cérebro isolado a duração dos potenciais de fuso estender-se por uma faixa maior (de até 160 ms) possa ser explicado pela verificação de Spencer e Brookhart³⁰, segundo a qual nesta preparação os fusos são predominantemente do tipo misto. É óbvio, portanto, que se os fenômenos descritos no gato forem semelhantes aos observados no rato, muitos dos fusos que denominamos complexos sejam resultantes não somente da composição de potenciais do tipo I, mas também da associação dos tipos I e II.

A distribuição dos valores de duração dos potenciais mostra que, sob tal aspecto, os fusos barbitúricos e os do sono espontâneo são mais parecidos entre si do que com os do cérebro isolado. Este fato sugere que a integridade da formação reticular mesencefálica desempenha papel relevante na gênese dos fusos. Tal hipótese encontra fundamento na verificação de que as lesões muito extensas da referida estrutura se acompanham de fusos mais complexos do que as lesões mais restritas.

O comportamento dos fusos quanto à frequência é sensivelmente semelhante nas quatro modalidades experimentais, modificando-se dentro de uma mesma fase de sono ou da hipnose barbitúrica (Negrão²⁹), assim como na preparação cérebro isolado, tanto na mesma área como em áreas corticais diferentes. A periodicidade (número de fusos por minuto) também varia acentuadamente. No entanto, estes fatos não dão a medida exata da real variabilidade dos fusos. Ao calcularmos a frequência correspondente a cada intervalo de tempo decorrido entre dois potenciais consecutivos verificamos que esta também varia, no mesmo fuso, com valores ao redor da frequência média por segundo. As respostas de recrutamento exibem exatamente a mesma tendência, apesar de serem desencadeadas por estímulos elétricos aplicados a intervalos constantes de tempo (Negrão²⁹). Há, portanto, variação temporal das características dos circuitos responsáveis pela produção dos fusos e dos potenciais de recrutamento, determinando modulações na amplitude e na frequência dos mesmos. É possível que este fato reflita o caráter probabilístico do funcionamento daqueles circuitos, o qual é influenciado pelo estado eletrotônico de seus elementos, modificado a cada momento pela aferência de influxos das mais diversas origens.

A projeção cortical dos fusos da preparação cérebro isolado se dá principalmente nas áreas 1, 2, 2a, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 39 e 40, de maneira semelhante

ao que ocorre com os fusos espontâneos e barbitúricos (Negrão²⁹). Mais raramente encontram-se fusos nas áreas auditivas e visuais; nas límbicas não foram observados em preparação alguma. Por outro lado, Negrão verificou que os potenciais de recrutamento são obtidos em toda a extensão da superfície dorsal do córtex cerebral do rato, inclusive nas áreas límbicas. Foi justamente nestas que os potenciais de recrutamento foram mais amplos, em resposta à estimulação do núcleo parafascicular do tálamo. Pelo contrário, na área 10, onde os fusos são geralmente de grande voltagem, os potenciais de recrutamento apresentavam-se com pequena amplitude. A topografia diversa dos fusos espontâneos ou barbitúricos e das respostas de recrutamento assinalada no rato por Negrão, diverge dos achados de Dempsey e Morison¹¹ que observaram, no gato, superposição das áreas corticais de projeção dos fusos barbitúricos e das respostas de recrutamento.

Nossas observações, associadas às de Negrão, evidenciam, por um lado, similitudes entre os fusos espontâneos, barbitúricos, da preparação cérebro isolado e das respostas de recrutamento, e, por outro lado, algumas diferenças. A semelhança é muito grande para que se possa negar a existência de relação causal entre tais manifestações eletrofisiológicas; não obstante, as diferenças também são importantes obrigando a admitir mecanismos parcialmente diversos em cada uma delas. Os fusos espontâneos e os barbitúricos são os que maior semelhança apresentam entre si. É provável que a integridade da formação reticular em ambos os casos seja responsável pelo fato, ao passo que sua destruição no cérebro isolado, além de liberar os mecanismos sincronizadores do tálamo, permita a ação de outras estruturas desativadoras, modificando algumas características dos fusos. Segundo Negrão, os potenciais de recrutamento, sendo obtidos por estimulação dos núcleos talâmicos, possivelmente representem mistura de elementos dos fusos espontâneos com potenciais vinculados a outros fenômenos fisiológicos, quiçá totalmente diversos dos envolvidos no sono.

A destruição da formação reticular do mesencéfalo determina, portanto, quadro electrocorticográfico semelhante porém não idêntico ao encontrado no sono espontâneo ou na hipnose barbitúrica. É provável que nestas duas últimas eventualidades o bloqueio, fisiológico ou farmacológico, da referida estrutura desempenhe o papel mais importante na configuração do ECoG; no entanto, outros mecanismos devem estar em jogo para explicar as diferenças existentes não apenas entre estas e o cérebro isolado, como também entre o sono espontâneo e a hipnose barbitúrica.

Nas preparações de cérebro isolado, tanto agudas como crônicas, observam-se ondas lentas no ECoG idênticas às encontradas nas fases profundas do sono ou na hipnose barbitúrica; em algumas ocasiões tais ondas constituem a principal, ou mesmo, a única atividade eletrofisiológica detectável. Em grande número de preparações agudas e crônicas verificamos o acoplamento de uma onda lenta, geralmente bifásica, com um fuso (fig. 12). Este tipo complexo de atividade era encontrado nas mesmas áreas corticais onde os fusos se projetam mais freqüentemente. Tipo idêntico de manifestação foi observado por Negrão no sono espontâneo do rato, denominando-o complexo de onda-fuso. Do ponto de vista morfológico esta manifestação muito

se assemelha ao complexo K descrito por Loomis, Harvey e Hobart²⁴ nas fases de sono leve no homem. Segundo Cobb⁸, o complexo K torna-se conspicuo nas fases de sono superficial, ocorrendo tanto espontaneamente como em resposta a estímulos de diversas naturezas. Roth, Show e Green³⁴ encontraram o complexo K também em indivíduos despertos quando submetidos a estímulos imprevistos. Para Walter⁴¹ e Hess Jr.¹⁵ o complexo K, observado durante o sono, teria a finalidade de impedir a dessincronização cortical em resposta a estímulos alertantes destituídos de importância especial, constituindo uma proteção ao estado de sono, tendendo a mantê-lo; nas fases mais profundas tal proteção já não seria necessária, tornando-se rara sua ocorrência. Cobb⁹ chama a atenção para o fato de que lesões mesencefálicas não impedem a ocorrência do complexo K o qual, entretanto, desaparece após lesões do tálamo ou das conexões talamocorticais.

Geralmente o complexo onda-fuso observado na preparação cérebro isolado não está relacionado com estímulos externos. Em várias ocasiões tentamos provocá-lo mediante estimulação sonora, não obtendo resultados constantes, principalmente nas preparações agudas. Nas crônicas a relação do complexo onda-fuso com ruídos era, às vezes, nítida; contudo, esta atividade continuava a ocorrer mesmo quando os animais eram colocados no interior de câmaras isoladas acusticamente.

Embora não possamos atinar com o significado do complexo onda-fuso no cérebro isolado, parece-nos plausível que sua presença indique superficialização do estado de sono nesta preparação. Este fato significaria que, mesmo após destruição total da formação reticular mesencefálica, o animal ainda pode apresentar oscilações da profundidade do sono. Em preparações crônicas de cérebro isolado tais oscilações já foram assinaladas por outros pesquisadores; em preparações agudas, porém, parece-nos que tal evento nunca foi realçado. De fato, o ECoG da preparação aguda de cérebro isolado não é imutável; por vezes predominam os fusos, associados ou não aos complexos de onda-fuso, e, segundos ou minutos depois, são as ondas delta que se tornam dominantes nas mesmas áreas. Além disso, são freqüentes os períodos de dessincronização da atividade cortical, prolongando-se por 2 ou 3 segundos na maioria das vezes; esta ativação do ECoG é aparentemente espontânea, uma vez que não pode ser provocada por estímulos nociceptivos, visuais ou auditivos. Estes fatos são coerentes com a hipótese de que os mecanismos sincronizadores do tálamo, supostamente liberados no cérebro isolado, podem ainda sofrer certo controle por parte de outras estruturas ativadoras situadas acima da transição mesodiencefálica.

Outro fato observado em preparações agudas de cérebro isolado, e que conduz à mesma linha de pensamento, é a ocorrência de ondas teta nas áreas límbicas corticais registradas simultaneamente com fusos em áreas neocorticais (fig. 13).

Green e Arduini⁴⁴ observaram, no coelho, que o ritmo teta no hipocampo estava relacionado com atividade dessincronizada neocortical, podendo ambos ser induzidos por estimulação elétrica de alta freqüência da formação reticular. Estes autores consideraram a atividade teta como a manifestação eletrofisiológica de alerta do hipocampo. Kawamura e col.³⁹, trabalhando com gatos, verificaram que

a estimulação elétrica do hipotálamo posterior provoca mais facilmente atividade de alerta no hipocampo (ondas teta) do que a estimulação da formação reticular mesencefálica; inversamente, a atividade dessincronizada do neocórtex (ativação) é obtida com maior facilidade pela excitação da formação reticular do mesencéfalo do que do hipotálamo posterior. Em preparações agudas de cérebro isolado os mesmos fisiologistas verificaram que, enquanto no neocórtex ocorriam fusos e ondas lentas, no páleo e no arquicórtex era registrada, durante longos períodos de tempo, atividade teta regular. Nessa mesma preparação notaram não haver elevação do limiar à estimulação elétrica do hipotálamo, para a ativação do sistema límbico, inversamente ao que ocorria em relação à ativação do neocórtex por estimulação da formação reticular mesencefálica. Demonstraram, assim, que na preparação cérebro isolado, ao lado da desativação neocortical provocada pela interrupção do sistema reticular ativador ascendente, pode persistir a ativação das estruturas límbicas pelo "sistema ativador hipotalâmico". Kawamura e col., baseando-se nestas e em outras observações, formularam a hipótese de que a região hipotalâmica ativa primariamente o páleo e o arquicórtex, e a formação reticular mesencefálica, o neocórtex. Tokizone⁴⁰ admite que o hipotálamo exerça controle não apenas sobre a atividade elétrica do córtex límbico, mas também sobre a do neocórtex, mediante os sistemas de projeção específica e não específica do tálamo. Este fisiologista sugere, inclusive, que o hipotálamo possa desempenhar papel mais crítico que a própria formação reticular mesencefálica na regulação do ritmo sono-vigília. Shimazono e col.³⁷ também comprovaram, em cães com secção do tronco cerebral ao nível da porção média da ponte, o aparecimento imediato de atividade teta no hipocampo, a qual se mantinha durante longos períodos de tempo; simultaneamente, no neocórtex, eram registrados atividade delta e fusos. Atribuíram este fato à supressão de um mecanismo ativador que estaria situado na porção inferior do tronco cerebral, considerando, portanto, a atividade teta do hipocampo como manifestação de desativação. Oshima e col.³⁰ observaram, no rato albino, os mesmos fatos fundamentais descritos no coelho e no gato, admitindo que o sistema hipotalâmico seria o principal responsável pela atividade de alerta do sistema límbico, enquanto a formação reticular do mesencéfalo estaria relacionada com a ativação do neocórtex.

Os fatos acima discutidos permitem explicar a aparente discrepância observada entre a atividade de sono, registrada no neocórtex, simultaneamente com a de alerta, observada nas áreas límbicas corticais, na preparação cérebro isolado. Nossas verificações coincidem com as de Kawamura e col.¹⁹ e de Shimazono e col.³⁷, demonstrando dualidade de mecanismos ativadores para o neocórtex e para o córtex límbico. Aparentemente os centros que regulam a atividade do sistema límbico podem também regular a do neocórtex, a se julgar pelas modificações desta no decorrer de experiências agudas e crônicas de cérebro isolado. Este controle é possivelmente exercido através do sistema de projeção não específico do tálamo, o qual se distribui não apenas a áreas extensas do neocórtex como também ao hipocampo e a todo sistema límbico (Rose e Woolsey³³). Eldeiberg, White e Brazier¹² demonstraram, no coelho, que vários núcleos talâmicos do grupo não específico (centro-mediano, dorsomedial e ventral anterior) estão relacionados com o controle do ritmo elétrico do hipocampo. Azzaroni e Parmeggiani⁴ observaram, no gato, relação estreita entre a atividade teta do hipocampo e o circuito de Papez, postulando a existência de um mecanismo de realimentação do qual participariam vários núcleos do tálamo (grupo anterior, lateral dorsal e medial dorsal). Estes pesquisadores consideram o ritmo teta

como a manifestação eletrofisiológica da atividade funcional do circuito de Papez.

Vários neurofisiologistas observaram influência predominantemente ipsilateral da formação reticular mesencefálica sobre a atividade do córtex cerebral. Moruzzi e Magoun, verificaram, no gato, que estímulos elétricos liminares aplicados à formação reticular podiam provocar ativação cortical limitada ao hemisfério cerebral ipsilateral. Knott e col.²⁰ descreveram, também no gato, lentificação do ECoG no hemisfério ipsilateral após lesões de uma das metades do tegmento mesencefálico; tal assimetria durava alguns dias, desaparecendo sem deixar vestígio. A mesma verificação foi feita por Rothballer³⁵, em preparações agudas de cães e gatos; êste fisiologista observou que a injeção de adrenalina ou noradrenalina provocava dessincronização da atividade elétrica apenas no hemisfério cerebral contralateral à lesão, indicando ser essencial a integridade da formação reticular mesencefálica para a ação de tais drogas. Cordeau e Mancia¹⁰ praticaram secção completa de uma das metades do mesencéfalo ao nível dos colículos superiores, no gato, observando intensa assimetria do ECoG. O hemisfério ipsilateral exibia atividade sincronizada contínua que somente era interrompida por estímulos alertantes, enquanto que, no contralateral, ocorriam as variações habituais da atividade elétrica correlacionadas às modificações do comportamento do animal. A partir destas observações, Cordeau e Mancia chegaram à conclusão de que o sistema reticular ativador, ao nível do mesencéfalo, está separado em dois contingentes, dirigindo-se cada um para o hemisfério cerebral homolateral; no entanto, impulsos ativadores de forte intensidade podem cruzar do lado intacto do mesencéfalo para o oposto acima do nível da lesão. Além disso, tornou-se claro que as conexões reticulocorticais de apenas um dos lados eram suficientes para manter os comportamentos de alerta e vigília. A assimetria da atividade elétrica cortical era mais acentuada logo após a lesão, atenuando-se progressivamente até desaparecer por completo 5 a 8 dias depois. A lesão do lado oposto no mesmo nível, feita após a normalização do ECoG, produzia efeitos opostos aos da primeira, indicando que a recuperação da atividade elétrica cortical se dava à custa da formação reticular situada no mesmo lado e acima da área lesada. Outra conclusão importante a que chegaram Cordeau e Mancia foi que a função ativadora da formação reticular independe de impulsos oriundos das estruturas situadas na parte caudal do tronco cerebral.

Milhorat, Baldwin e Hantman²⁵ observaram, após secção unilateral do mesencéfalo no macaco, atividade electrocortical lenta e de voltagem elevada associada a abundantes "fusos de sono". Tal atividade era registrada bilateralmente, sendo porém muito mais pronunciada no hemisfério correspondente à lesão. Estímulos dolorosos determinavam dessincronização parcial do ECoG do "hemisfério adormecido" enquanto que, no contralateral, esta se mostrava muito nítida.

Contrariamente aos resultados mencionados no parágrafo anterior, Bach-Y-Rita e col.⁵ não conseguiram provocar assimetria do ECoG, destruindo uma

das metades do mesencéfalo no gato. Estes pesquisadores afirmam que somente quando as lesões atingem o subtálamo surge tal assimetria, concluindo que, em nível mesencefálico, não há individualização dos contingentes reticulares destinados à ativação dos hemisférios cerebrais. No mesmo trabalho fazem a surpreendente assertiva de que a lesão bilateral extensa da formação reticular mesencefálica é insuficiente para produzir sincronização do ECoG em grande número de preparações, afirmando que tal fato ocorre somente quando a lesão secciona quase completamente o tronco cerebral.

Os achados em nossas preparações com destruição de uma das metades do tegmento mesencefálico (hemicérebro isolado) confirmam, no rato, as observações feitas por Cordeau e Mancia. Nas preparações agudas o ECoG mostra-se nitidamente assimétrico, com ondas lentas e fusos no hemisfério cerebral correspondente à metade lesada enquanto que, no oposto, ocorre menor quantidade de ondas lentas mescladas com atividade dessincronizada. Estímulos dolorosos provocam ativação do ECoG no hemisfério contralateral à lesão, sendo esta ativação discreta e efêmera, ou mesmo ausente, no hemisfério cerebral isolado. A estimulação elétrica da formação reticular intacta produz dessincronização prolongada do ECoG do lado correspondente e fugaz e menos nítida do lado oposto; quando se excita eletricamente a metade lesada (caudalmente ao nível da lesão) os efeitos são semelhantes, sendo, porém, o limiar ligeiramente mais elevado. Tais fatos indicam haver no rato, como no gato, no cão e no macaco, separação ao nível do mesencéfalo dos contingentes reticulares destinados a ativação do hemisfério cerebral ipsolateral. Existem, contudo, contingentes cruzados que apenas entram em ação quando influxos aferentes de grande intensidade, desencadeados por estímulos alertantes, atingem a formação reticular.

Nas preparações crônicas verifica-se progressiva diminuição da assimetria da atividade elétrica dos dois hemisférios cerebrais, sendo que 4 ou 5 dias após a lesão esta atividade se apresenta praticamente simétrica. Em um dos animais, 6 dias depois da lesão de uma das metades do mesencéfalo, destruímos a outra no mesmo nível. Observamos, então, sincronização do ECoG do hemisfério cerebral correspondente a esta última operação enquanto que, no outro, as alterações foram pouco pronunciadas, mantendo-se predominantemente dessincronizada; cerca de 5 dias depois o ECoG dos dois hemisférios cerebrais apresentava-se novamente simétrico. Esta observação, embora isolada, permite supor que, no rato, da mesma forma que Cordeau e Mancia verificaram no gato, a recuperação da atividade cortical dessincronizada no hemicérebro isolado se deve à influência da formação reticular situada do mesmo lado e acima do nível lesado. O traumatismo operatório e o edema que se instala imediatamente após a lesão, assim como a desorganização funcional provocada pela perda brusca de conexões aferentes e eferentes, seriam responsáveis pela inibição temporária da formação reticular localizada acima do nível destruído. Com a gradativa recuperação funcio-

nal desta as características habituais do ECoG vão reaparecendo até a completa normalização.

Um fato interessante, que somente observamos em preparações de hemi-cérebro isolado, foi a ocorrência de atividade cortical fusiforme constituída pela sucessão regular de uma onda lenta e de uma espícula. Esta atividade era bilateral, embora muito mais característica no hemisfério cerebral correspondente à metade lesada do mesencéfalo. Aparentemente a lesão unilateral é crítica para o aparecimento de tal atividade pois, em um dos animais, a lesão da outra metade do mesencéfalo, feita 6 dias depois, fêz com que ela desaparecesse, dando lugar aos fusos habitualmente observados. Por outro lado, em duas preparações agudas, a injeção de pequenas doses de pentobarbital também aboliu os complexos de espícula-onda, que foram substituídos pelos fusos comumente encontrados nestas condições.

Jasper¹⁷ obteve, no gato e no macaco, respostas corticais do tipo espícula-onda a 3 Hz, estimulando elêtricamente certas porções do sistema reticular talâmico (pólo do núcleo dorsomedial e núcleo central lateral); algumas vêzes, contudo, a excitação das mesmas regiões induzia ao aparecimento somente de ondas lentas a 3 Hz. Por êste motivo Jasper considerou a onda lenta ligada à ativação de um sistema talamocortical distinto do envolvido nos potenciais de recrutamento.

Ê tentador estabelecer correlação entre êste tipo de atividade e o que caracteriza a assim chamada epilepsia centrencefálica do tipo pequeno mal e o de outras crises com abolição brusca da consciência. Williams⁴² registrou simultâneamente a atividade elétrica do tálamo e do córtex cerebral em uma criança com crises de pequeno mal, verificando que a onda lenta se inicia no tálamo e somente quando ela se torna bem evidente no traçado é que surgem espículas ao nível do córtex cerebral. A espícula precede a onda, parecendo ser essencial para a manutenção do ritmo a 3 Hz. Segundo Williams, portanto, uma crise de pequeno mal se inicia no tálamo e persiste através de descargas repetidas corticotalâmicas até sua extinção, sendo que as espículas desaparecem antes das ondas lentas.

Em aparente contradição com as observações de Williams e de Jasper, segundo as quais o tálamo está implicado na produção do complexo espícula-onda, Ingvar¹⁶ descreveu o mesmo fenômeno no córtex cerebral totalmente isolado do gato; êste fisiologista observou, nesta preparação, atividade elétrica espontânea, ou provocada por metrazol, que se apresentava sob várias formas, inclusive de espículas-ondas a 3 Hz; em geral o aparecimento da espícula era precedido por ondas lentas com a mesma freqüência. Segundo Ingvar, os ritmos a 3 Hz são comuns no córtex cerebral isolado. Freqüentemente as espículas-ondas eram substituídas por descargas de espículas contínuas de grande amplitude e com maior freqüência; esta ocorrência era facilitada pela injeção de metrazol ou pela isquemia. Além dos ritmos mencionados, Ingvar descreve um componente de baixa voltagem e alta freqüência (mais de 65 Hz) como integrando a atividade elétrica do

córtex cerebral isolado, sendo comuns, ainda, períodos longos de total silêncio elétrico. Purpura³² menciona ter observado, em cães, descargas de espículas-ondas a 3 Hz no córtex cerebral tratado com doses subliminares de estricnina, estimulando a medula oblonga com pulsos elétricos de alta frequência. Pollen e col.³¹, da mesma forma que Jasper, obtiveram no gato o complexo de espícula-onda em áreas anteriores do córtex cerebral, estimulando eletricamente a 3 Hz os núcleos intralaminares do tálamo; as condições ótimas para a indução de tal fenômeno eram propiciadas pela anestesia leve com pentobarbital, sendo os complexos espícula-onda melhor evidenciados quando os fusos barbitúricos se tornavam menos freqüentes ou estavam ausentes do ECoG. A estimulação iterativa da formação reticular a alta frequência bloqueava a espícula-onda cortical. Segundo Ajmone-Marson¹ e Pollen e col.³¹ a onda lenta representa o componente inibidor do complexo de espícula-onda.

Como verificamos, confrontando os resultados dos diferentes autores acima citados, existe grande controvérsia em relação à origem e natureza do complexo de espícula-onda. Apesar das divergências sobre vários aspectos, todos os pesquisadores observaram que a frequência de tal complexo era de 3 Hz. No entanto, em nossas preparações de hemisférebro isolado, a frequência encontrada estava dentro da faixa da dos fusos; de fato, nas quatro preparações em que foi registrado o complexo de espícula-onda sua frequência variou de 8 a 12 Hz. Este fato talvez indique que a atividade por nós observada seja diferente da descrita por outros autores e da observada no pequeno mal epiléptico, estando mais relacionada ao mecanismo de produção dos fusos. Não encontramos referência alguma de outros pesquisadores sobre a ocorrência de fusos constituídos por seqüências de espículas e ondas lentas, em qualquer tipo de condição em que estes são observados, e não temos, por ora, explicação para tal fenômeno.

RESUMO

No presente estudo foram utilizados 73 ratos em preparações agudas e crônicas, nas quais lesamos a formação reticular mesencefálica com corrente contínua (3,5 a 4,0 mA durante 5 a 10 segundos). O eletródio ativo era implantado estereotaxicamente segundo as coordenadas de König e Klippel. As lesões eram feitas parcial ou totalmente, uni ou bilateralmente, e em todos os animais procedeu-se ao controle histológico das áreas lesadas, usando-se o método de Weil. O registro da atividade elétrica cortical foi feito com polígrafo Beckman de 4 canais, utilizando-se derivações bipolares curtas (1mm) com eletródios esféricos de platina. As experiências permitiram as seguintes conclusões:

1 — As características eletrofisiológicas dos fusos que ocorrem após lesões da formação reticular mesencefálica são muito semelhantes às dos

fusos espontâneos e barbitúricos, inclusive quanto à projeção cortical. Quanto à duração dos potenciais que os constituem, contudo, notamos que a faixa de variação era mais centuada (20 a 80 ms), o que pode ser atribuído à maior complexidade dos potenciais do cérebro isolado, possivelmente pela falta de ação cronadora da formação reticular sobre o sistema sincronizador talâmico. 2 — Os mecanismos envolvidos na gênese dos fusos do sono barbitúrico ou espontâneo e os do cérebro isolado são, pelo menos em parte, dependentes do bloqueio da formação reticular mesencefálica. 3 — A formação reticular mesencefálica ativa preferencialmente o hemisfério cerebral homolateral; o contingente cruzado talvez seja mobilizado somente quando estímulos alertantes intensos atingem o tegmento mesencefálico. 4 — Além da formação reticular mesencefálica deve haver outros mecanismos ativadores corticais, visto que, em preparações agudas de cérebro isolado, observamos: a) surtos de curta duração de atividade dessincronizada; b) oscilações frequentes do ECoG durante o registro, denotando fases de maior ou menor sincronização do traçado; c) ondas teta nas áreas límbicas (talvez evidenciando alerta) registradas simultaneamente com fusos em áreas neocorticais.

SUMMARY

Electrocorticographic study of the rats's brain after lesioning of the midbrain reticular formation

Seventy three rats were prepared for acute and chronic experiments. The midbrain reticular formation was electrolytically destroyed (3,5 — 4,0 mA and 5 — 10 sec) by means of an active electrode estereotactically guided according with the atlas of König and Klippel. The procedure was destined to provoke partial, total, unilateral and bilateral lesions in different preparations. The ECoG was recorded with a 4-channel Beckman polygraph. Short bipolar leads were used in all experiments.

1. Spindling which occurred after the operation was similar to spindling found in physiological sleep and in barbiturate narcosis as well. Similarity was striking as to the electrophysiological properties and cortical projections. However, the duration of the individual potentials dispersed much more than in the above mentioned conditions (20 — 80 msec), which may be related to the higher complexity exhibited by the spindles which appear on the ECoG after destruction of the reticular formation of the midbrain, possibly due to lack of reticular timing of the thalamic synchronizing system activity, since spindling was more regular when circumscribed lesions of the midbrain were made.

2. The mechanisms involved in production of spindles during spontaneous and barbiturate sleep and after lesioning of the midbrain reticular formation are at least partially dependent upon reticular blocking.

3. The midbrain reticular formation activates mainly the ipsilateral hemisphere. The crossed component of the activating system is, probably, brought in action only when arousing stimuli are very strong.

4. Besides midbrain reticular formation other cortical activating mechanisms certainly play a role in arousing, since, in acute preparations, simultaneously with neocortical spindling, we frequently recorded: a) short-lasting periods of desynchronization of the ECoG; b) synchronization of the ECoG is not steady but waxes and wanes in time; c) theta waves, which are associated with limbic arousal, are recorded on the cortical limbic areas.

REFERÊNCIAS

1. AJMONE-MARSON, C. — The thalamus: data on its functional anatomy and some aspects of thalamo-cortical integration. *Arch. ital. Biol.* 103:847-882, 1965.
2. ANDERSEN, P.; ANDERSSON, S. A.; JUNGE, K. & SVEEN, O. — Patterns of spontaneous barbiturate spindle activity within the thalamus. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 24:90, 1968.
3. ANDERSEN, P.; ANDERSSON, S. A. & LOMO, T. — Thalamo-cortical relations during spontaneous barbiturate spindles. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 24:90, 1968.
4. AZZARONI, A. & PARMEGGIANI, P. L. — Feedback regulation of the hippocampal theta-rhythm. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 25:309-321, 1967.
5. BACH-Y-RITA, G.; BAURAND, C. & CHRISTOLOMME, A. — A comparison of EEG modifications induced by coagulation of subthalamus, preoptic region and mesencephalic reticular formation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 26:493-502, 1969.
6. BISHOP, G. H.; CLARE, M. H. & LANDAU, W. M. — The equivalence of recruiting and augmenting phenomena in the visual cortex of the cat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 13:34-42, 1961.
7. BRADLEY, P. B.; EAYRS, J. T.; GLASS, A. & HEALTH, R. W. — The maturational and metabolic consequences of neonatal thyroidectomy upon the recruiting responses in the rat. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 13:577-586, 1961.
8. COBB, W. A. — The normal adult EEG. *In* D. Hill & G. Parr: *Electroencephalography: A Symposium on its Various Aspects.* MacDonal, London, 1963, ed. 2, pp. 232-249.
9. COBB, W. A. — The EEG of lesions in general. *In* D. Hill & G. Parr: *Electroencephalography: A Symposium on its Various Aspects.* MacDonal, London, 1963, ed. 2, pp. 295-316.

10. CORDEAU, J. P. & MANCIA, M. — Effect of unilateral chronic lesions of the midbrain on the electrocortical activity of the cat. *Arch. ital. Biol.* 96:374-399, 1958.
11. DEMPSEY, E. W. & MORISON, R. S. — The production of rhythmically recurrent cortical potentials after localized thalamic stimulation. *Amer. J. Physiol.* 135:293-300, 1942.
12. ELDEIBERG, E.; WHITE, J. C. & BRAZIER, M. A. B. — The hippocampal arousal pattern in rabbits. *Exp. Neurol.* 1:483-490, 1959.
13. FRENCH, J. D.; VERZEANO, M. & MAGOUN, H. W. — A neural basis for the anesthetic state. *Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago)* 69:519-529, 1953.
14. GREEN, J. D. & ARDUINI, A. A. — Hippocampal electrical activity in arousal. *J. Neurophysiol.* 17:533-557, 1954.
15. HESS, W. E. Jr. — Sleep and sleep disturbances in the electroencephalogram. *In* K. Akert, C. Bally & J. P. Schädé: *Sleep Mechanisms*. Elsevier, Amsterdam, 1965, pp. 127-139.
16. INGVAR, D. H. — Electrical activity of isolated cortex in the unanesthetized cat with intact brain stem. *Acta physiol. scand.* 33:151-168, 1955.
17. JASPER, H. H. — Diffuse projection systems: the integrative action of the thalamic reticular system. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 1:405-420, 1949.
18. JOUVET, M. — Recherches sur les structures nerveuses et les mécanismes responsables des différentes phases du sommeil physiologique. *Arch. ital. Biol.* 100:125, 1962.
19. KAWAMURA, H.; NAKAMURA, Y. & TOKIZANE, T. — Effect of acute brain stem lesions on the electrical activities of the limbic system and neocortex. *Jap. J. Physiol.* 11:564-575, 1961.
20. KNOTT, J. R.; INGRAM, W. R. & CHILES, W. D. — Effects of subcortical lesions on cortical electroencephalogram in cats. *Arch. Neurol. Psychiat. (Chicago)* 73:203-215, 1955.
21. KÖNIG, J. F. R. & KLIPPEL, R. A. — *The Rat Brain: a Stereotaxic Atlas*. Williams, Baltimore, 1963.
22. KRIEG, W. J. S. — Connections of the cerebral cortex. I. The albino rat: topography of the cortical areas. *J. comp. Neurol.* 84:221-275, 1946.
23. KRUPP, P.; MONNIER, M. & STILLE, S. — Topischer Einfluss des Caffein auf das Gehirn. *Arch. exp. Pathol. Pharmak.* 235:381-384, 1959.
24. LOOMIS, A. L.; HARVEY, E. N. & HOBART, G. — Distribution of disturbance patterns in the human electroencephalogram, with special reference to sleep. *J. Neurophysiol.* 1:413-430, 1938.

25. MILHORAT, T. H.; BALDWIN, M. & HANTMAN, D. A. — Experimental epilepsy after rostral reticular excision. *J. Neurosurg.* 24:595-611, 1966.
26. MORISON, R. S. & DEMPEY, E. W. — A study of thalamo-cortical relations. *Amer. J. Physiol.* 135:281-292, 1942.
27. MORUZZI, G. — Synchronizing influences of the brain stem and the inhibitory mechanism underlying the production of sleep by sensory stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol. (suppl.)* 13:231-256, 1960.
28. MORUZZI, G. & MAGOUN, H. W. — Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 1:455-473, 1949.
29. NEGRÃO, N. — Ciclos de sono, fusos de sono natural e anestésico e potenciais de recrutamento no rato. Tese. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1967.
30. OSHIMA, K.; MIYAMA, T. & KAWAMURA, H. — Studies on EEG of the neo, paleo and archicortices in albino rat. *Jap. J. Physiol.* 12:601-610, 1962.
31. POLLEN, D. A.; PEROT, P. & REID, K. H. — Experimental bilateral wave and spike from thalamic stimulation on relation to level of arousal. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 15:1017-1028, 1963.
32. PURPURA, D. P. — A neurohumoral mechanism of reticulo-cortical activation. *Amer. J. Physiol.* 186:250-254, 1956.
33. ROSE, J. E. & WOOLSEY, C. N. — Organization on mammalian thalamus and its relationships to cerebral cortex. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 1:391-404, 1949.
34. ROTH, M.; SHAW, J. & GREEN, J. — The form, voltage, distribution and physiological significance of the K complex. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 8:385-402, 1956.
35. ROTHBALLER, A. B. — Studies on the adrenaline-sensitive component of the reticular activating system. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 8:603-621, 1956.
36. SCHERRER, H. & HERNANDEZ-PEÓN, R. — Enhancement of recruiting responses after midbrain transection. *Anat. Rec.* 121:363, 1955.
37. SHIMAZONO, Y.; HORIE, T.; HORI, N.; CHIKAZAWA, S.; OKABE, M. & HAYASHI, M. — On the "hippocampal rhythmic waves" in acute and chronic experiments in dogs. *Int. J. Neurol. (Montevideo)* 5:151-167, 1965.
38. SPENCER, W. A. & BROOKHART, J. M. — Electrical patterns of augmenting and recruiting waves in depths of sensorimotor cortex of cat. *J. Neurophysiol.* 24:26-49, 1961.
39. SPENCER, W. A. & BROOKHART, J. M. — A study of spontaneous spindle waves in sensorimotor cortex of the cat. *J. Neurophysiol.* 24:50-65, 1961.

40. TOKIZANE, T. — Sleep mechanism: hypothalamic control of cortical activity. In M. Jouvet: Neurophysiologie des États de Sommeil. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1965, pp. 151-185.
41. WALTER, W. G. — The Living Brain. Penguin, Middlesex, 1968.
42. WILLIAMS, D. — A study of thalamic and cortical rhythms in petit mal. Brain 76:50-69, 1953.

*Clínica Neurológica — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
— Caixa Postal 3461 — São Paulo, SP — Brasil.*