

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO EXPLORATÓRIO DE RATOS ALB-
NOS SUBMETIDOS A VÁRIOS TRATAMENTOS DIETÉTICOS AVA-
LIADO ATRAVÉS DA RESPOSTA A UM ESTÍMULO NOVO (1)**

Leda Ulson Mattos *

Maria Josefina Leuba Salum **

Hisako Shima ***

Maria Leonor Correia Pimentel Amaral ****

Mauro Antonio Pires Dias da Silva ****

MATTOS, L. U.; SALUM, M. J. L.; SHIMA, H.; AMARAL, M. L. C. P.;
SILVA, M. A. P. D. Estudo do comportamento exploratório de
ratos albinos submetidos a vários tratamentos dietéticos
avaliado através da resposta dada a um estímulo novo. *Rev.
Esc. Enf. USP* 9 (3): 89-100, 1975.

Trabalhando com ratos albinos e recém desmamados, os autores observaram as alterações do comportamento exploratório em duas fases carenciais (desnutrição protéico-calórica e carência protéica total) e numa subsequente fase de recuperação. Concluem haver alterações do comportamento exploratório que parecem relacionar-se ao tipo de dieta recebida pelo animal.

INTRODUÇÃO

O efeito da desnutrição nos primeiros anos da vida da criança sobre seu quociente intelectual tem sido estudado por vários autores. Nesse sentido, CRAVIOTTO & DE LICARDIE (1971) estudaram.

(1) Trabalho realizado com auxílio da FAPESP

* Prof. Assistente Doutor da Disciplina Nutrição e Dietética Aplicadas à Enfermagem

** Bolsista da FAPESP — Estudante da Escola de Enfermagem da USP

*** Auxiliar de Ensino da Disciplina Nutrição e Dietética Aplicadas à Enf.

**** Estudantes da Escola de Enfermagem da USP

numa comunidade mexicana, crianças portadoras de kwashiorkor ou marasmo, verificando haver relação entre a desnutrição protéico-calórica e o desenvolvimento da linguagem. Ainda verificaram haver relação entre a estimulação externa procedente da mãe e aquele desenvolvimento.

Alguns estudos foram realizados com animais de laboratórios. Assim, SIMONSON e colaboradores (1969) estudaram o desenvolvimento neuromotor em ninhadas cujas mães foram submetidas a dietas restritas em quantidade de alimento durante a gestação e/ou lactação. Verificaram que o nível de integração de desenvolvimento neuromotor não está necessariamente relacionado à idade cronológica.

BAIRD e colaboradores (1971) estudaram a aprendizagem em ratos desnutridos. Provocando desnutrição protéico-calórica na fase intra-uterina, durante a lactação ou após o desmame, verificaram que a dieta pobre em proteínas é mais prejudicial para a aprendizagem do que a dieta pobre em calorias. Revelam, porém, a necessidade de serem realizados mais estudos a respeito, pois existem muitas variáveis. Apenas a má nutrição está afetando o comportamento dos animais ou existirão outros fatores? A má nutrição da mãe pode mudar o seu relacionamento em relação aos filhotes e esta mudança pode modificar o comportamento destes.

SEITZ (1954) verificou que há uma relação inversa entre o tamanho da ninhada e a atenção que ela recebe. Sugere que esta é uma das razões pelas quais os animais pertencentes a uma ninhada grande, crescem mais lentamente. Segundo WIDDOWSON & McCANCE (1960) são mais apáticos e menos curiosos.

Vários métodos têm sido utilizados pelos diversos autores para avaliar a aprendizagem de animais. Por outro lado, têm sido feitos vários estudos de aspectos comportamentais. FRANKOVA & BARNES (1966) estudaram o comportamento exploratório de ratos desnutridos após o desmame e utilizaram equipamento semelhante à caixa de HALL para medir a qualidade e intensidade do comportamento exploratório. ZIMMERMANN & ZIMMERMANN (1972), considerando as limitações do teste em campo aberto, propõem a utilização de uma situação estimuladora adicional em campo aberto. Consideram que esta última geraria ou despertaria a emotividade no animal, corrigindo as medidas desvirtuadas pela variação do comportamento emocional gerado no teste comum em campo aberto. LAT citado em LAT e col (1961) utilizou uma caixa de madeira dividida em dois compartimentos, separados por uma porta removível para medir a atividade exploratória de ratos. Esse aparelho foi utilizado mais tarde pelo mesmo autor e colaboradores para medir a atividade exploratória de animais desnutridos.

O presente trabalho tem o objetivo de estudar o comportamento exploratório de ratos albinos em três fases dietéticas consecutivas: 1) carência protéico-calórica; 2) carência protéica total; 3) recuperação após as duas fases iniciais.

METODOLOGIA

a. **Animais de experiência:** foram utilizados 50 ratos *, (**Rattus norvegicus albinus**), Wistar, machos, recém desmamados aos 21 dias de idade.

b. **Caseína **:** contendo 75,6% de proteína.

c. **Carne:** patinho fresco, sem gordura, moído e cozido, contendo 21,6% de proteína.

d. **Dietas**

Ingredientes g/ 100g dieta	Dietas				
	caseína 20%	caseína 4%	Apro- teica	Caseína 6%	carne 6%
caseína	26,8g	5,3g	—	8,0g	—
carne	—	—	—	—	27,7g
óleo	6,0g	4,8g	4,0g	4,0g	4,0g
óleo de fígado bacalhau	1,6g	1,6g	1,6g	1,6g	1,6g
vitaminas	1,6g	1,6g	1,6g	1,6g	1,6g
sais minerais	3,2g	3,2g	3,2g	3,2g	3,2g
açúcar	60,8g	41,2g	89,6g	81,6g	38,1g

e. **Equipamento para avaliação do comportamento exploratório:** utilizamos aparelho adaptado ao descrito por LAT (1957) é que consiste no que se segue: a gaiola moradia do animal é acoplada a uma gaiola teste feita em acrílico, com as mesmas dimensões da gaiola de moradia (20x22x25 cm). Separando os dois compartimentos há uma porta removível adaptada à gaiola teste. Todo o conjunto é encerrado por uma caixa retangular, sendo uma das suas faces constituídas de vidro PROCEL e as outras de isopor. A caixa de isopor tem as seguintes dimensões: 75 x 49 x 49. Durante o teste é iluminada internamente com lâmpada de 15 watts, de maneira a provocar estimulação mínima e a permitir utilização adequada do vidro PROCEL.

* Obtidos no biotério da FMUSP

** Laticínios Tacirgy

Métodos

a. Dosagem de problemas nos alimentos: foram feitas, inferindo-se da dosagem de nitrogênio pelo método de KJELDAHL modificado (ALBANESE) 1963.

b. Métodos experimentais

Tratamento dos animais: os animais foram submetidos a três fases dietéticas.

FASE I — Depois de estabelecida a linha de base, os 50 ratos foram distribuídos ao acaso em 3 grupos, com a restrição única de que não houvesse mais de que 20% de ratos mais ativos da amostra em cada grupo. O grupo A, ou grupo controle, constituído por 10 animais, recebeu dieta de caseína a 20% ad libitum. O grupo B, ou grupo de restrição protéica, constituído por 20 animais, recebeu dieta de caseína a 4% ad libitum. O grupo C, ou grupo de restrição protéico-calórica, recebeu dieta de caseína a 20%, em quantidade limitada, de maneira a manter o mesmo crescimento que o grupo B. O grupo C também foi constituído por 20 animais. Todos os animais, em todos os grupos, foram colocados em gaiolas individuais, recebendo água ad libitum. Esta fase teve a duração de 47 dias, período este relativo ao tempo necessário para que os animais dos grupos B e C alcançassem peso médio de 50,0g.

FASE II — Os grupos experimentais (B e C foram submetidos à dieta aprotéica ad libitum e o controle permaneceu com a mesma dieta da fase I. Esta fase teve duração de 15 dias.

FASE III — Os grupos experimentais foram subdivididos e recuperados, com dieta de caseína a 6% ou de carne a 6% ad libitum, durante 50 dias. O grupo controle permaneceu com a mesma dieta anterior.

Método de avaliação do comportamento exploratório: Ao final de cada fase, os animais foram submetidos a teste de comportamento exploratório no equipamento descrito acima. Eram retirados água e alimento 20 minutos antes do início do teste. Este foi realizado no período noturno (18h 30 min) e teve duração de 15 minutos. Precedia ao teste um período de adaptação no aparelho (2 min). Constituiu-se de duas etapas: na primeira, com duração de 5 minutos, os animais não tinham acesso à gaiola teste. Decorrido esse período, era removida a porta que separava os dois compartimentos. Assim, na segunda etapa, com duração de 10 minutos, permitia-se o livre

acesso do animal à gaiola teste. Foram usados 4 observadores que, antes do início do experimento, foram treinados na observação de outros animais e o experimento só foi iniciado após observar-se 99% de concordância inter observadores.

Após a abertura da gaiola teste, os animais foram observados a cada 5 segundos, sendo registrada a ocorrência da passagem parcial ou total do animal para a gaiola teste. A introdução de somente alguns segmentos do corpo na gaiola teste, denominamos passagem parcial e à do corpo todo, passagem total.

Após o registro foram computados os seguintes parâmetros, também utilizados por LÁT e col. (1961):

— **TEMPO DE LATÊNCIA:** correspondeu ao tempo de demora para o animal passar, pela primeira vez, parcial ou totalmente, da gaiola de moradia para a gaiola teste após a abertura da porta removível;

— **FREQUÊNCIA DE PASSAGEM:** correspondeu ao número de vezes que o animal passou, parcial ou totalmente, da gaiola de moradia para a gaiola teste e vice-versa;

— **TEMPO DE RESPOSTA FRANCA:** correspondeu ao tempo que o animal permaneceu na gaiola teste, parcial ou totalmente.

Estes foram, também, os procedimentos obedecidos na linha de base.

Métodos estatísticos: Os dados foram analisados pelo teste e de Student e pelo teste do qui quadrado com nível de 5% de significância.

RESULTADOS

Havia sido previsto, inicialmente, tabelar e analisar os dados da fase de recuperação, (fase III), separadamente, fossem relativos à recuperação com dieta de carne a 6% ou à de caseína a 6%. No entanto, a mortalidade apresentada nos grupos experimentais, especialmente no grupo B, reduziu o número de animais por grupo nessa fase, não havendo possibilidade de analisar os dados separadamente. Assim, quando nos referimos à fase III, estaremos abordando conjuntamente os dados dos grupos recuperados com carne ou caseína.

Nas tabelas 1, 2 e 3 constam os dados computados representativos do índice de comportamento exploratório dos grupos experimentais e do grupo controle.

Tabela 1 — Tempo médio de latência (segundos), segundo o grupo, na linha de base e nas três fases experimentais.

GRUPO	FASE			
	Linha de Base	I	II	III
A	98,5 (83,9)	196,7* (97,7)	204,3 (174,2)	37,5* (33,0)
B	98,5 (83,9)	121,5 (149,8)	30,0* (41,4)	(1)
C	98,5 (83,9)	196,1* (162,2)	79,2* (153,6)	163,9* (135,1)

* $p < 0,05$ em relação à fase imediatamente anterior

** $p < 0,05$ em relação ao grupo A

(1) os animais deste grupo não exploraram a gaiola teste

Ao observarmos a tabela 1, verificamos que da linha de base para a fase I houve um aumento no tempo médio de latência, significativo nos grupos A e C. Este tempo cai na fase II nos grupos experimentais e praticamente se mantém no grupo controle, para na fase III decrescer significativamente e para no grupo C aumentar significativamente.

A tabela 2 apresenta os dados referentes ao tempo médio de resposta franca.

Tabela 2 — Tempo médio de resposta franca (segundos), segundo o grupo, na linha de base e nas três fases experimentais.

GRUPO	FASE			
	Linha de Base	I	II	III
A	88,0 (56,7)	12,5* (7,6)	35,0* (23,3)	28,7 (17,5)
B	88,0 (56,7)	150,0* " (129,8)	416,2* " (225,7)	(1)
C	88,0 (56,7)	169,6* " (119,4)	308,7* " (249,2)	131,1* (120,4)

* $p < 0,05$ em relação à fase imediatamente anterior

" $p < 0,05$ em relação ao grupo A

. $p < 0,05$ em relação ao grupo B

(1) os animais deste grupo não exploraram a gaiola teste

Ao analisarmos a tabela 2, verificamos que o grupo controle apresenta valores pequenos, ao passo que os grupos experimentais apresentam valores significativamente mais altos. Além disso, na fase II, o grupo C tem valores significativamente mais baixos que o grupo B.

A tabela 3 mostra as frequências médias de passagem e podemos observar que os valores obtidos para o grupo C são mais altos que os do controle, porém só houve diferença significativa na fase I.

Tabela 3 — Frequência média de passagem, segundo o grupo, na linha de base e nas três fases experimentais.

GRUPO	FASE			
	Linha de Base	I	II	III
A	3,5 (1,1)	2,0* (1,5)	3,4 (2,3)	3,0 (1,8)
B	3,5 (1,1)	3,8 (2,2)	2,3* (1,3)	(1)
C	3,5 (1,1)	5,4* 2,9	4,5* (3,2)	5,8* (2,9)

" p < 0,05 em relação à fase imediatamente anterior

* p < 0,05 em relação ao grupo A

. p < 0,05 em relação ao grupo B

(1) os animais deste grupo não exploraram a gaiola teste

A tabela 4 mostra a percentagem de animais que entrou na gaiola teste, nos três grupos, na linha de base e nas três fases experimentais. O teste de qui quadrado indica diferença, entre grupos, altamente significativa ($p < 0.001$) na fase I, e significativa ($p < 0.05$) na fase III, o que parece dever-se à maior frequência no grupo C nas fases citadas e à frequência nula no grupo B, na fase III.

Tabela 6 — Percentagem de animais que entraram na gaiola teste, segundo o grupo, na linha de base e nas três fases experimentais.

GRUPO	FASE			
	Linha de Base	I	II	III
A	17,8	60,0	77,8	44,4
B	17,8	66,7	110,0	0,0
C	17,8	73,7	75,0	90,0

DISCUSSÃO

BOLLES (1963), estudando o efeito da privação de alimento no comportamento de ratos albinos, verificou alterações que identificam aumento da atividade nos animais privados, em relação ao grupo não privado. Porém, julga o autor, que tais alterações devam-se mais a "condicionamento" do que ao efeito direto da privação de alimento, pois, após serem a ela submetidos, os animais foram alimentados ad libitum, voltando a apresentar níveis de atividade semelhantes aos do controle.

Ao analisarmos a tabela 1, verificamos que o grupo controle responde muito mais rapidamente na fase de recuperação, ao passo que o grupo B nem sequer explora o novo ambiente. No entanto, não é o que acontece com o grupo C, que o explora, mas apresenta um tempo de latência muito maior do que o do controle. Assim, nossos grupos experimentais alteraram seu comportamento nas fases de carência nutricional, mas não voltaram a apresentar níveis de atividade exploratória semelhantes aos do grupo controle, o que se pode observar também pelos dados das tabelas 2 e 3.

FRANKOVA & BARNES (1966) estudaram a influência da desnutrição protéico-calórica, após o desmame, no comportamento de ratos Holtzman. Verificaram aumento da intensidade de comportamentos exploratórios nos grupos submetidos à desnutrição protéica ou calórica, especialmente nos últimos, na fase de restrição. No entanto, observaram decréscimo, em relação ao controle, no comportamento exploratório daqueles grupos, ao submetê-los à recuperação. Isto não ocorreu com os nossos animais desnutridos, e, se observarmos as tabelas 1 e 2, verificamos que apesar dos grupos experimentais apresentarem maior tempo médio de latência, o tempo médio de resposta franca foi significativamente maior nas duas fases carenciais. O grupo B, no entanto, não entrou na gaiola teste na fase III e o grupo C apresenta, apesar do maior tempo médio de latência, resposta mais demorada no tempo médio de resposta franca, quando confrontado com o controle.

Se analisarmos a resposta exploratória sob o aspecto proposto por ZIMMERMANN & ZIMMERMANN (1972), constataremos que há realmente um decréscimo da atividade exploratória no grupo B na evolução do experimento. Porém, o grupo C não se comportou assim e havia sido restrito anteriormente, os dados dos autores citados evidenciarão valores inferiores para ratos albinos recuperados após fase de desnutrição em relação ao grupo controle.

A tabela 3 evidencia maior frequência de passagem para a gaiola teste no grupo C, significativamente diferente na fase I, em relação ao controle e ao grupo B. Essa frequência cai significativamente na fase II, mas seus valores ainda são maiores que os do controle e na fase III ela aumenta significativamente em relação à fase II. O

grupo B apresentou valores mais altos, não significativos na fase I, mas decresce significativamente na fase II para valores inferiores aos do controle.

LÁT, WIDDOWSON e Mc CANCE (1961) mediram a atividade exploratória de ratos albinos desnutridos na primeira semana de vida. Constataram decréscimo daquela atividade aos 21, 39 e 49 dias, porém, aos 500 dias de idade, os comportamentos exploratórios dos grupos controle e experimental eram semelhantes, não havendo diferença significativa entre seus resultados. O equipamento e os parâmetros utilizados por nós para medir a atividade exploratória foram semelhantes aos destes autores. Porém, obtivemos valores elevados para desvio padrão, o que não ocorreu no trabalho citado. Avaliando as dimensões do compartimento utilizado por LÁT, WIDDOWSON e Mc CANCE (1961) verificamos que aparentemente são diferentes; entretanto esta diferença reflete-se muito mais na distribuição do espaço e não na área total do aparelho.

É difícil comparar os nossos dados e os dos diferentes autores, uma vez que a metodologia empregada nos trabalhos que relacionam comportamento exploratório com estados nutricionais é bastante diversificada, desde a idade em que são testados os animais até as categorias comportamentais e condições nutricionais utilizadas. Porém, do exposto, podemos concluir:

— parece haver estreita relação entre alterações no comportamento exploratório de acordo com o tratamento dietético a que é submetido o animal;

— a restrição protéico-calórica e a carência protéica total levam à exacerbação do comportamento exploratório;

— pelo que foi observado no período de recuperação de animais desnutridos, estes não voltaram a apresentar níveis de exploração semelhantes aos do controle, o que parece dever-se à história nutricional anterior.

São necessárias, porém, maiores informações sobre a influência da dieta recebida sobre o comportamento exploratório.

MATTOS, L. U.; SALUM, M. J. L.; SHIMA, H.; AMARAL, M. L. C. P.; SILVA, M. A. P. D. — Exploratory behavior study of white rats exposed to different dietary treatment and evaluated through their responses to a novel stimuli. *Rev. Esc. Enf. USP*, 9 (3): 1975.

The authors investigated exploratory behavior patterns of white rats under normal and experimental dietary conditions. Two (2) experimental groups were studied; one received a low level protein diet ad libitum, the other a high protein diet with restricted portions during 47 days. After this period the rats received a fifteen days free protein diet, and recovered, afterwards, with meat or casein diet. Rats showed abnormalities of exploratory behavior in all experimental periods and the authors concluded that it could be related to dietary treatment.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALBANESE, A. A.** — **New methods of nutritional bioch.** New York, Academic Press, 1963, v. 1, p. 84.
- BAIRD, A.; WIDDOWSON, E. M.; COWLWY, J. J.** — **Effects of calorie and protein deficiencies in early life on the subsequent learning ability rats.** **Brit. J. Nutr.**, 25: 391-403, 1971.
- BARNES, R. H.; CUNNOLD, S. R.; ZIMMERMANN, R. R.; SIMONS, H.; Mac LEOD, R. B.** — **Influence of nutritional deprivations in early life on learning behavior of rats as measured by performance in a water maze.** **J. Nutr.**, 89: 399-410, 1966.
- BOLLES, R. C.** — **Effect of food deprivation upon the rat's behavior in its home cage,** **J. comp. physiol. Psychol.**, 56: 456-460, 1963.
- CRAVIOTTO, J. & DE LICARDIE.** — **Environmental correlates of severe clinical malnutrition and language developmeno in survivors from kwashiorkor or marasmus.** In: **PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION — Nutrition the nervous sistem and behavior.** Washington, 1972. (Scientific publication, n.º 251), p. 73-94.
- FRANKOVA, S. & BARNES, R. H.** — **Influence of malnutrition in early on exploratory behavior of rats.** **J. Uutr.**, 96: 477-484, 1966.
- LAT, J.; WIDDOWSON, E. M.; Mc CANCE, F. R. S.** — **Some effects of accelerating growth. III Behavior and nervous activity.** **Proc. Roy Soc. Med.** 153: 347-356, 1961.

SEITZ, P. F. D. — The effects of infantile experiences upon adult behavior in animal subjects. 1. Effect of litter size during infancy upon adult behavior in the rat. **Am. J. Psychiat**, 110: 916, 1954.

SIMONSON, M.; STEPHAN, J. K., HANSON, H. M.; CHOW, B. F. — Open field studies in offspring of underfed mother, **J. Nutr.**, 101: 331-336, 1971.

—————; SHERWIN, R. W.; ANILANE, J. K.; YU, W. Y.; CHOW, B. F. Neuromotor development in progeny of underfed rats. **J. Nutr.**, 98: 18-24, 1969.

WIDDOWSON, E. M. & Mc CANCE, R. A. — Some effects of accelerating growth. I. General somatic development. **Proc. roy. Soc. B**. 152: 188-206, 1960.

ZIMMERMAN, R. R. & ZIMMERMAN, S. J. — Responses of protein malnourished rats to novel objects. **Percept motor Skills**, 35: 319-321, 1972.