

Estudos dos Efeitos da Buspirona, da Fluoxetina e da Associação de Ambas sobre a Extinção do Comportamento Operante Condicionado, em Ratos, por Privação de Alimento

Study of The Effects of Buspirone, Fluoxetine and Both Drugs on The Lack of The Food-Deprivation Conditioned Behavior, in Rats

Alexandre Luiz Seo¹ • Andrea Vieira¹ • Cristiane Schiripa¹ • Marcos Junqueira Wolff¹
• Mônica Costa Monteiro de Resende¹ • Sérgio Rodrigo Longo¹ • Cristina de Zotti Nassis²

RESUMO

A buspirona é um composto não benzodiazepínico, com ação serotoninérgica direta, demonstrando possuir uma atividade ansiolítica agindo como agonista parcial dos receptores serotoninérgicos HT1A. O objetivo do atual trabalho é estudar os efeitos da buspirona, fluoxetina e da associação de ambas em extinção de sintomas de ansiedade em grupos de ratos. Isso já havia sido proposto em um primeiro ensaio clínico controlado por GRADY et al (1993) em pacientes obsessivo-compulsivos com sintomas de ansiedade mas nenhum estudo prospectivo foi encontrado.

Os ratos foram treinados no sentido de buscar o alimento em uma caixa de condicionamento operante pressionando uma alavanca. Após a instalação do comportamento condicionado, cada pressão sobre a alavanca resultava na liberação de um choque elétrico na região plantar da cobaia. Posteriormente, os animais foram divididos em

grupos nos quais foram administrados solução salina, buspirona, fluoxetina, e a associação das duas últimas drogas (BF) e em seguida os ratos voltaram a ser submetidos ao treinamento.

Concluiu-se, então, que a buspirona e a fluoxetina, quando utilizadas separadamente, não foram capazes de reverter a extinção por conflito do comportamento operante condicionado em ratos. No entanto esta reversão foi realizada com a associação das duas drogas.

Unitermos: buspirona, benzodiazepínicos, fluoxetina, obsessivo-compulsivo, ansiedade, comportamento condicionado

SUMMARY

Buspirone is a non-benzodiazepens substance with an anxiolytic activity and it is a HT1A serotonergic receptor partial agonist. The purpose

1 - Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC

2 - Instituto de Ciências Biomédicas da USP (departamento de Farmacologia) e Faculdade de Medicina da Fundação do ABC

Trabalho realizado na disciplina de Farmacologia do departamento de Morfologia e Fisiologia da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC

of this study is to know the effect of buspirone, fluoxetine and both drugs on the lack of the food-deprivation conditioned behavior, in rats. It was the objective of clinical trial made by Grandy et al (1993) on patients with obsessive-compulsive disorder, but no previous study was found.

The rats have been trained to press a lever to receive food in an operant box. After, this conditioned behavior every time that the lever was pressed an electric shock was applied on animal's feet. After that it was given to each group of rats placebo, buspirone, fluoxetine and both drugs (BF) and that the rats came back to the training.

The conclusion was that buspirone and fluoxetine, when used independently, were not able to stop the operant punishment task but when they were given together, this behavior was stopped.

Key Words: buspirone, benzodiazepens, fluoxetine, anxiolytic, obsessive-compulsive disorder, operant punishment task

INTRODUÇÃO

Vários compostos não benzodiazepínicos, com ação serotoninérgica direta, demonstraram possuir uma atividade ansiolítica (GARDNER, 1988 ; TAYLOR, 1990). Entre eles, a buspirona é a mais utilizada na terapêutica até o momento (GOLDBERG & FINNERTY, 1979 ; RIBLET et al, 1982; RICKELS, 1990) e age como agonista parcial dos receptores serotoninérgicos HT 1A.

Autores como MARKOVITZ et al (1990) e JENIKE et al (1991) verificaram que pacientes com diagnóstico de ansiedade relacionada à doença obsessivo-compulsivo apresentaram um grau significativamente maior de regressão dos sintomas ansiosos e obsessivo-compulsivo quando tratados com uma associação de buspirona e um antidepressivo como a fluoxetina ou a sertralina, cujo mecanismo de ação é baseado na inibição da recaptura da serotonina pelas fibras pré-sinápticas.

GRADY et al (1992) realizaram o primeiro ensaio clínico controlado objetivando o estudo da associação buspirona / fluoxetina em pacientes obsessivo-compulsivo com sintomas de ansiedade, mas nenhum estudo foi encontrado na literatura a respeito do efeito de tal associação sobre os sintomas da ansiedade.

O objetivo do presente trabalho é, portanto, investigar, em ratos, os efeitos da buspirona, da fluoxetina, e da associação de ambas sobre a extinção, por indução de conflito, de um comportamento operante condicionado, um modelo animal clássico para o estudo da ansiedade.

1. Animais

Foram utilizados ratos do tipo Sprague-Dawley, machos, com peso corporal entre 250-300 g, provenientes do biotério central do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

Os animais foram mantidos sob ciclo de luz invertido de 12 horas.

2. Drogas

Buspirona (BUSPAR®, Bristol-Myers / Squibb, CT, USA); Fluoxetina (PROZAC®, Ely-Lilly, MS, USA); Diazepam (VALIUM®, Hoffmann-La Roche, NJ, USA).

3. Procedimento Experimental

3.1. Treinamento dos animais

O método utilizado consiste numa variação daquele proposto por GELLER & SEIFTER (1960) e por PRADO DE CARVALHO et al (1983) para avaliação dos efeitos desinibidores de substâncias químicas sobre a extinção de comportamentos naturais por choques elétricos plantares.

Os ratos foram mantidos sob condições de privação de alimento (jejum de 24 horas) e treinados no sentido de pressionar uma alavanca numa caixa de condicionamento operante (P.J.Noyes, NH, USA), o que liberava um pellet de 20 mg de ração balanceada (Purina). As sessões de treinamento extendiam-se por 20 minutos cada, em dias alternados.

Uma vez instalado o comportamento condicionado, as sessões foram restritas a um dia por semana, e modificadas da seguinte maneira : nessas sessões (teste de conflito), nos 5 minutos iniciais a cada pressão do animal sobre a alavanca, liberava-se um pellet de ração. Nos 15 minutos seguintes, cada pressão sobre a alavanca resultava na liberação do alimento associada a uma descarga elétrica (0,2 mA, 300 ms) através do solo da caixa de condicionamento. Portanto, a cada pressão sobre a alavanca, o animal recebia o pellet de ração, e, concomitantemente, um choque elétrico na região plantar.

3.2. Protocolo Experimental

Os ratos foram divididos em 4 grupos (n = 25) e tratados, por via intraperitoneal, da seguinte forma :

- Grupo controle : solução salina
- Grupo buspirona : buspirona (10 mg/kg)
- Grupo fluoxetina : fluoxetina (0,1 mg/kg)
- Grupo BF : buspirona (10 mg/kg) + fluoxetina (0,1 mg/kg)

As drogas foram administradas após o término do período de treinamento, quando o comportamento condicionado já se havia instalado nos animais. O tratamento foi repetido por 5 dias, uma vez ao dia, período no qual os ratos não foram submetidos a treinamento na caixa de condicionamento operante, nem a privação de alimento.

No sexto dia, os animais receberam o tratamento com as drogas e foram submetidos a 24 horas de jejum. Após tal período, o teste de conflito era realizado, conforme descrito no item 3.1.

Foi registrada a quantidade de vezes que cada animal pressionou a alavanca, a cada 5 minutos do teste, sendo extraídos a média e o erro padrão da média (EPM) de cada grupo.

3.3. Tratamento estatístico dos dados

Foi utilizado o teste bicaudal de Wilcoxon para comparação intra e intergrupos ($p < 0,01$).

RESULTADOS

O quadro 1. mostra o número médio de vezes (+ EPM) que a alavanca da caixa de condicionamento operante foi pressionada por cada grupo de ratos, a cada 5 minutos do teste de conflito.

Os resultados apresentados demonstram que:

- Existe uma diminuição significativa do número de acionamentos da alavanca a partir dos 10 minutos do teste nos grupos controle, fluoxetina e buspirona.

- No grupo BF não ocorreram alterações estatisticamente significativas ao número de acionamentos da alavanca no decorrer do teste de conflito.

QUADRO 1 - Número de acionamentos (média + EPM) de uma alavanca de condicionamento operante, após 6 dias de tratamento, em ratos treinados, medido a cada 5 minutos.

Grupo	Número de Acionamentos		
	5 minutos	10 minutos	15 minutos
Controle	30 ± 6	6 ± 2**	4 ± 2**
Buspirona	28 ± 7	4 ± 1**	5 ± 2**
Fluoxetina	34 ± 6	7 ± 2**	5 ± 1**
BF	31 ± 4	28 ± 6*	29 ± 7*

* Diferenças significativas, entre os grupos tratados e o controle, para cada intervalo de tempo delimitado no teste de conflito.

** Diferenças significativas intragrupos, durante o teste de conflito, comparando-se os resultados dos primeiros 5 minutos de teste com os demais.

Os benzodiazepínicos foram, durante a década de 70, o grupo farmacológico mais utilizado terapêuticamente nos EUA (GOLDBERG & FINNERTY, 1979). Entretanto, relatos de euforia e sedação (CANT, 1976) associadas ao uso desses fármacos levaram à busca por novos ansiolíticos.

A buspirona, droga não benzodiazepínica de ação ansiolítica, não demonstrou, em estudos pré-clínicos e clínicos, possuir ação euforizante ou sedativa (SÖDERPALM et al, 1993). No entanto, o mecanismo de ação ansiolítica dessa droga permaneceu obscuro até a década de 90, quando TAYLOR (1990), RADJA et al (1992) e ANDRADE & CHAPUT (1991) estabeleceram que a buspirona exerce atividade agonista parcial sobre os receptores serotoninérgicos do tipo HT1A, principalmente nos núcleos da base e no hipocampo. Os receptores HT1A podem ser segundo BLIER & DE MONTIGNY (1987) e CHARNEY et al (1990) subdivididos em receptores-alvo e auto-receptores. SÖDERPALM et al (1993) demonstraram que a buspirona quando administrada cronicamente em ratos, dessensibilizava os auto-receptores HT1A, diminuindo, portanto, a liberação de serotonina pelas fibras pré-sinápticas. Os mesmos autores relacionaram tal ação aos efeitos ansiolíticos da buspirona.

A fluoxetina, por outro lado, é um antidepressivo de segunda geração que age inibindo a recaptura da serotonina pelas fibras pré-sinápticas (PRE SKORN, 1995) e promovendo a consequente dessensibilização dos receptores serotoninérgicos pré e pós-sinápticos. Alguns autores (GRADY et al, 1993) verificaram que, em alguns pacientes com diagnóstico de ansiedade, o uso concomitante de fluoxetina ou sertralina se mostrava capaz de mostrar o efeito ansiolítico da buspirona. Entretanto, esses achados careciam de comprovação experimental. O presente estudo teve por objetivo a avaliação dos efeitos da buspirona, da fluoxetina e da associação de ambas em ratos submetidos a um modelo clássico de ansiedade, o teste de conflito (YAMASHITA et al, 1994). Nossos resultados demonstraram que, quando animais treinados no paradigma de condicionamento operante por privação de alimento foram tratados com buspirona ou fluoxetina, ainda apresentaram respostas ao teste de conflito estatisticamente similares às verificadas em animais não tratados. O tratamento com associação buspirona/fluoxetina, no entanto, foi capaz, nas mesmas condições de trabalho, de reverter totalmente a extinção do comportamento condicionado induzida pelo teste de conflito.

CONCLUSÕES

1. A buspirona (10 mg/kg), administrada por 6 dias, uma vez ao dia (1P) não foi capaz de reverter a extinção por conflito do comportamento operante condicionado em ratos.

2. A fluoxetina (0,1 mg/kg), administrada por 6 dias, uma vez ao dia (1P) não foi capaz de reverter a extinção por conflito do comportamento operante condicionado em ratos.

3. A associação entre buspirona (10 mg/kg) e fluoxetina (0,1 mg/kg), administrada por 6 dias, uma vez ao dia (1P) mostrou-se capaz de reverter a extinção por conflito do comportamento operante condicionado em ratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade, R.; T. Chaput. The electrophysiology of serotonin receptor subtypes, in: **Serotonin Receptor Subtypes**, ed. S.J. Peroutka (Wiley-Liss, New York), p.103, 1991.
2. Blier, P.; C. DeMontigny. Modification of 5-HT neuron properties by sustained administration of 5-HT_{1A} agonist gepirone: electrophysiological studies in the rat brain. **Synapse** 1, (5): 470-80, 1987.
3. Cant G. Valiumania. **New York Times Magazine**, Feb 1: 34-44, 1976.
4. Charney, D.S.; J. Krystal; P.L.Delgado; G.R. Heninger. Serotonin-specific drugs for anxiety and depressive disorders. **Annu. Rev. Med.** 41: 437-46, 1990.
5. Gardner, C.R. Potencial use of drugs modulating 5-HT activity in the treatment of anxiety. **Gen. Pharmacol.** 19:347-356; 1988.
6. Geller, I.; Seifter, J. The effect of meprobamate, barbiturates, d-amphetamine and promazine on experimentally induced conflict in the rat. **Psychopharmacologia** 1: 482-492, 1960.
7. Goldberg HL; Finnerty RJ. The comparative efficacy of buspirona and diazepam in the treatment of anxiety. **Am J Psychiatry** 136: 1184-1187, 1979.
8. Grady TA; Pigott TA; L'Heureux F; Murphy DL. Seizure associated with fluoxetine and adjuvant buspirona therapy. **J Clin Psychopharmacol** 12: 70-71, 1992.
9. Hjorth, S.; A. Carlsson. Buspirona: effects on central monoaminergic transmission - possible relevance to animal experimental and clinical findings. **European J. Pharmacol.** 83 (3-4): 299-303, 1982.
10. Jenike MA; Baer L; Buttolph L. Buspirona augmentation of fluoxetine in patients with obsessive-compulsive disorder. **J Clin Psychiatry** 52 (1):13-14, 1991.
11. Markovitz PJ; Stagno SJ; Calabrese JR. Buspirona augmentation of fluoxetine in obsessive-compulsive disorder. **Am J Psychiatry** 147: 798-800, 1990.
12. Prado de Carvalho, L.; Grecksch, G.; Chapoutier, G.; Ossier, J. Anxiogenic and nonanxiogenic benzodiazepine antagonists. **Nature** 301 (5895):64-6, 1983.
13. Preskorn, SH. Comparison of the tolerability of bupropion, fluoxetine, imipramine, nefazodone, paroxetine, sertraline and vefafaxine. **J. Clin. Psychiatry** 56 (suppl. 6): 12-21, 1995.
14. Radja, F., G. Daval, M. Hamon and D. Verge. Pharmacological and physicochemical properties of presynaptic versus postsynaptic 5-hydroxytryptamine-1A receptor binding sites in the rat brain. **J. Neurochem.** 58 (4): 1338-46, 1992.
15. Riblet LA; Taylor DP; Eison MS; Stanton HC. Pharmacology and neurochemistry of buspirona. **Journal of Clinical Psychiatry** 43 (Section 2): 11- 16, 1982.
16. Rickels, K. Buspirona in clinical practice. **J. Clin. Psychiat.** 51: 51-54, 1990.
17. Stanton, H.C., D.P. Taylor and L.A. Riblet. Buspirona: an anxiolytic drug with dopaminergic action, in: **The Neurobiology of the Nucleus Accumbens**. Eds R.B. Chronister and J.F. de France, Haer Institute, Brunswick, U.S.A., p.316, 1981.
18. Söderpalm, B ; Lundin, B ; Hjorth, S. Sustained 5-hydroxytryptamine release-inhibitory and anxiolytic-like action of the partial 5-HT_{1A} receptor agonist, buspirona, after prolonged chronic administration. **Eur. J. Pharmacol.**, 239 (1-3): 69-73, 1993.
19. Taylor, D.P. Serotonin agents in Anxiety, **Ann. NY Acad. Sci.** 600: 545-56, 1990.
20. Yamashita, S ; Oishi, R ; Gomita, Y. Anticonflict effects of acute and chronic treatments with buspirona and gepirone in rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 50 (3): 477-9, 1995.

Endereço de um dos autores: ALEXANDRE LUIZ SEO

Avenida Moaci, 1093 - apto 94 - Indianópolis - São Paulo - Capital - CEP 04078-003