



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB

FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE

FARMÁCIA

**EFEITO DE FÁRMACOS QUE ATUAM NA NEUROTRANSMISSÃO  
SEROTONINÉRGICA SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANIMAIS EM  
ABSTINÊNCIA DE ÁLCOOL SUBMETIDOS AO LABIRINTO EM T ELEVADO (LTE)**

BRENNO VINÍCIUS MARTINS HENRIQUE

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ EDUARDO PANDOSSIO

BRASÍLIA

2014

BRENNO VINÍCIUS MARTINS HENRIQUE

**EFEITO DE FÁRMACOS QUE ATUAM NA NEUROTRANSMISSÃO  
SEROTONINÉRGICA SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANIMAIS EM  
ABSTINÊNCIA DE ÁLCOOL SUBMETIDOS AO LABIRINTO EM T ELEVADO (LTE)**

Monografia de Graduação submetida à Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Bacharel em Farmácia.

---

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ EDUARDO PANDOSSIO

BRASÍLIA

2014

Nome: HENRIQUE, Brenno Vinícius Martins

Título: Efeito de fármacos que atuam na neurotransmissão serotoninérgica sobre o comportamento de animais em abstinência de álcool submetidos ao labirinto em T elevado (LTE).

Monografia de Graduação submetida à Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora

Prof. Dr. José Eduardo Pandossio

Julgamento: \_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dra. Vivian da Silva Santos

Julgamento : \_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dra. Graziela F. Scarpelli Ferreira

Julgamento : \_\_\_\_\_

Instituição: Instituto de Educação Superior de Brasília

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. José Eduardo Pandossio, pela oportunidade concedida de trabalhar e aprender, pelo empenho, dedicação e paciência durante todas as etapas de elaboração do trabalho. Suas contribuições foram extremamente importantes para o meu crescimento intelectual e pessoal.

À banca examinadora, pela solicitude e atenção dispensada na leitura desse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Processos Básicos em Psicologia da Universidade Católica de Brasília, Raphael Ribeiro e Vinícius Carolino, pelo suporte técnico prestado durante a realização desse trabalho.

À Nathália Silva Cunha, do Laboratório de Educação Física Experimental da Universidade Católica de Brasília, pelo suporte técnico e cuidado com os animais.

À Natália Moraes Martins, pelo auxílio durante os procedimentos experimentais.

Aos professores do curso de farmácia da FCe-UnB por todo ensinamento e incentivo durante todos os períodos da graduação.

Aos meus pais, Marcelo Henrique e Lúcia Maria, pelo amor incondicional, exemplo de determinação e honestidade, apoio e carinho sempre presentes.

À minha irmã, Brenda Aíssa, pelo amor, apoio, incentivo, entusiasmo e incrível amizade.

À Clênia Azevedo, por todo o amor, carinho, amizade e dedicação e compreensão nos últimos seis anos. Seu companheirismo nos momentos de dificuldade tornou essa caminhada mais tranquila. Você traz alegria para os meus dias. Obrigado por estar presente na minha vida e ser motivo de imensa felicidade. Encontrar você foi incrível!

A Deus, pela força e por cuidar da minha vida. Sem Ele, não estaria aqui.

## RESUMO

A dependência de etanol é uma doença multifatorial, caracterizada por um comportamento de perda de controle sobre o uso da bebida, e permanência do uso, apesar das diversas consequências. O etanol atua como agonista dos neurotransmissores ácido gama-aminobutírico (GABA) e dos opióides endógenos, além de antagonista não-competitivo de glutamato. Através dessa modulação, o etanol atua indiretamente sobre outros sistemas neuroquímicos, como serotonina e dopamina. Assim, pretendeu-se avaliar o efeito de fármacos que atuam na neurotransmissão serotoninérgica sobre o comportamento de animais em abstinência de álcool, submetidos ao labirinto em T elevado (LTE). Ratos *Wistar* machos tiveram livre acesso à solução de etanol 10% durante 15 dias. Após esse período, os animais foram divididos em três grupos, de acordo com a administração ip dos fármacos utilizados: haloperidol 10mg/kg ou risperidona 6mg/kg e salina, como controle. No LTE foram avaliadas três medidas de latência de esquiva e fuga, bem como a frequência de bolos fecais. Após o LTE, os animais foram submetidos ao campo aberto, sendo avaliada a frequência de cruzamentos, levantamentos, autolimpeza e bolos fecais, sendo investigada a indução de um possível efeito sedativo. De maneira geral, haloperidol e a risperidona aumentaram as latências de esquiva e fuga em comparação com a salina, sugerindo um papel ansiogênico e ansiolítico, respectivamente. No campo aberto não houve alteração na frequência de cruzamentos, não envolvendo sedação. De acordo com o mecanismo de ação das drogas utilizadas, pode-se relacionar os efeitos alcançados com a participação dos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico sobre a ansiedade na SAA.

Palavras-chave: Dependência de etanol, abstinência de etanol, serotonina, dopamina, labirinto em T elevado.

## ABSTRACT

Ethanol dependence is a multifactorial disease characterized by a loss of control over the use of the drink, and continuing to wear, despite several consequences. Ethanol acts as an agonist of the neurotransmitter gamma-aminobutyric acid (GABA) and endogenous opioids, in addition to non-competitive glutamate antagonist action. Through this modulation, ethanol acts indirectly on other neurochemical systems, such as serotonin and dopamine. Thus, we sought to evaluate the effect of drugs acting on serotonergic neurotransmission on behavior of animals in alcohol withdrawal, submitted to the elevated T maze (ETM). Male *Wistar* rats had free access to 10% ethanol solution for 15 days. After this period, the animals were divided into three groups according to the ip administration of the drugs used: 10mg/kg haloperidol or risperidone 6mg/kg and saline as control. In the ETM three measures of inhibitory avoidance and one way escape, as well as the frequency of fecal boli were evaluated. After the ETM, the animals were submitted to the open field in order to evaluate the frequency of crossings, rearings, self-cleaning and fecal boli, to investigate the induction of a possible sedative effect. In general, haloperidol and risperidone have increased avoidance and escape latencies, suggesting an anxiolytic and anxiogenic role, respectively. In the open field there was no change in the frequency of crossings, showing no involving sedation. According to the mechanism of action of drugs used, it is possible relate the effects achieved with the involvement of dopaminergic and serotonergic systems on anxiety in AWS.

Keywords: Addiction ethanol, ethanol abstinence, serotonin, dopamine, elevated T maze.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Estrutura de antipsicóticos utilizados na SAA.

Figura 2 – Labirinto em T elevado.

Figura 3 - Dimensões do Labirinto em T elevado (LTE).

Figura 4 – Campo aberto.

Figura 5 - Esquema de administração de etanol no experimento piloto.

Figura 6 - Esquema de administração de etanol e tratamento da SAA nos animais.

Figura 7 – Preferência pela solução de etanol 10%.

Figura 8 - Volume (mL) de etanol 10% consumido pelos animais durante 15 dias.

Figura 9 - Latência de esquiva inibitória para cada um dos grupos estudados.

Figura 10 - Latência de fuga para cada um dos grupos estudados.

Figura 11 – Frequência de bolos fecais nos braços abertos e fechado do LTE.

Figura 12 - Avaliação da frequência de comportamentos no campo aberto.

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\bar{x}$  - Média

$\tilde{x}$  - Mediana

ANOVA – Análise de Variância

bpm - Batimentos por minuto

DT – Delirium tremens

EtOH – Etanol

GABA - Ácido gama-aminobutírico

GL - Gay-Lussac

Ip - Intraperitoneal

LTE – Labirinto em T elevado

m/v – Relação massa/volume

s – segundos

SAA – Síndrome de abstinência alcoólica

SNC - Sistema Nervoso Central

v/v – Relação volume/volume

VTA – Área tegmentar ventral



## SUMÁRIO

Introdução.....	10
Objetivos.....	15
Objetivos Gerais.....	15
Objetivos Específicos.....	15
Metodologia.....	16
Animais.....	16
Drogas e Doses.....	16
Modelos experimentais.....	16
Procedimentos.....	18
Testes Comportamentais.....	20
Análise estatística.....	21
Resultados.....	22
Procedimento piloto.....	22
Administração de etanol.....	22
Labirinto em T elevado.....	23
Campo aberto.....	28
Discussão.....	31
Conclusões, Limitações e Perspectivas Futuras.....	34
Referências Bibliográficas.....	35
Anexos 1 e 2 - Comprovante de aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética.....	41

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo de bebidas alcoólicas é uma prática comum em vários países do mundo e, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 2.5 milhões de pessoas morrem em decorrência do uso abusivo dessa droga (WHO, 2011). No Brasil, onde o consumo *per capita* anual de álcool varia entre 7.5 e 10 litros, o Ministério da Saúde e outros órgãos desenvolvem planos assistenciais com o objetivo de prevenir, tratar e reabilitar os usuários de álcool e outras drogas (MS, 2004). Atualmente, cerca de 90% da população adulta no mundo ocidental consome pelo menos algum tipo de bebida alcoólica. Além disso, 10% dos consumidores de álcool podem realizar uso abusivo dessa droga e 10% desse total deve se tornar dependente. (RAMOS; WOITOWITZ, 2004). Dessa forma, o alcoolismo, hoje, é considerado um problema de saúde pública e o entendimento da relação de dependência dessa substância envolve processos biológicos, sociais e psicológicos.

Nesse contexto, o alcoolismo é uma doença com fatores genéticos, ambientais e psicossociais, caracterizada por um comportamento de perda de controle sobre o uso da bebida, distorção de pensamento e permanência do uso, apesar das diversas consequências (MORSE; FLAVIN, 1992). Assim, a intoxicação por etanol resulta em alterações na neurotransmissão de glutamato e GABA (ácido gama-aminobutírico). O etanol atua como um agonista GABA, promovendo a sua liberação em partes específicas do sistema nervoso central, permitindo a ativação do receptor GABA-A (receptor do tipo canal iônico ativado por ligante). Em consequência disso, o etanol atua como um antagonista não competitivo de glutamato – neurotransmissor que possui 99% de receptores excitatórios (TABAKOFF; HOFFMAN, 2013). Além disso, há aumento intracelular da concentração de íons cloro, resultando na hiperpolarização celular, também responsável pela sensação de relaxamento e sedação do organismo. A hiperpolarização celular pode ser resultado da saída de íons potássio da célula e, por isso, o etanol atua como agonista de opióides endógenos.

Nesse sentido, o uso do álcool afeta áreas do SNC responsáveis pela memória e tomada de decisões. Assim como outras drogas, o álcool ativa a via dopaminérgica em neurônios na área tegmentar ventral (VTA), com prologamentos para o *nucleus accumbens* e córtex pré-frontal, na via denominada como sistema de recompensa

(TABAKOFF; HOFFMAN, 2013). O uso de álcool promove a liberação de dopamina, favorecendo a ativação de receptores do tipo D2 (URBAN et al. 2010). A estimulação desses receptores de dopamina parece estar diretamente associada à estimulação locomotora induzida pelo álcool.

Outro importante neurotransmissor que é liberado em decorrência do uso de etanol é a serotonina (5-HT). A grande quantidade de 5-HT liberada resulta na ativação de vários subtipos de receptores, como o 5-HT<sub>2</sub>, que parece interagir diretamente com a dopamina. A ativação do 5-HT<sub>2</sub> na VTA estimula a liberação de dopamina nessa região e, por isso, essa relação serotonina-dopamina pode apresentar importante papel na indução do comportamento de uso da bebida. Essa alteração em vários sistemas neuroquímicos resulta em alterações variadas no comportamento do usuário de etanol, sendo os mais comuns: euforia e desinibição (resultante do aumento de dopamina), sono e ataxia (resultado dos efeitos sobre GABA e glutamato) (ATTWOOD; MUNAFO, 2014).

O consumo de álcool produz efeitos sistêmicos, além dos relatados no SNC. Um dos principais órgãos alterados é o fígado e, em pessoas que fazem consumo de álcool, há a presença de danos hepáticos, evidenciados pelo aumento de transaminases hepáticas: TGO e TGP (Transaminase Glutâmico Oxalacética e Transaminase Glutâmico Pirúvica, respectivamente) (CLARK et al., 2001). Além disso, o consumo de álcool em adolescentes pode diminuir os níveis de estrogênio em meninas (DEES; SKELLEY, 1990), hormônio luteinizante e testosterona em meninos e hormônios do crescimento em ambos os sexos (FRIAS et al., 2000). Em fêmeas de ratos da linhagem *Wistar* também há alterações hormonais quando há consumo de álcool (DEES et al., 2001). Há ainda alterações na estrutura óssea em meninos que fazem consumo de álcool (ELGAN et al., 2002). Efeito semelhante foi observado em ratos machos (WEZEMAN et al., 1999).

Com isso, o diagnóstico de dependência de álcool é caracterizado após a observação dos seguintes parâmetros: tolerância (necessidade de aumento na quantidade de substância utilizada para se obter o efeito desejado), abstinência (presença de alguns sinais e sintomas como insônia, agitação psicomotora e ansiedade, e uso de álcool para aliviar esses sintomas de abstinência) e prejuízo de atividades diárias (desejo intenso pelo uso da droga, atrapalhando atividades diárias

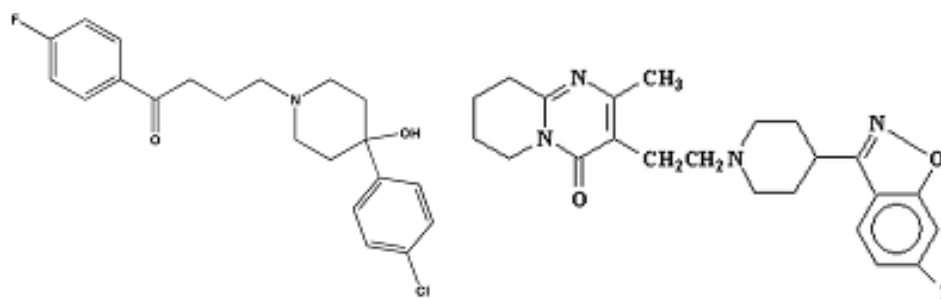
como escola e trabalho, grande quantidade de tempo em contato com a droga ou se recuperando de uma intoxicação). A observação desses três fatores é importante para a identificação de um caso de dependência de etanol (APA, 2013).

Focalizando a síndrome de abstinência alcoólica (SAA), essa é marcada pela presença de alguns sinais característicos, entre 4 e 12 horas após a redução na ingestão do álcool. Para o diagnóstico da SAA, pelo menos dois dos seguintes sinais devem ser observados: aumento da sudorese ou pulsação superior a 100bpm (sinais característicos da hiperativação do sistema nervoso simpático), tremor, insônia, náuseas ou vômitos, agitação psicomotora, alucinações e ansiedade (APA, 2013). Além desses, um sinal característico de SAA é o *delirium tremens* (DT), quadro caracterizado por alucinações, tremor intenso e agitação. Assim, sedativos (barbitúricos e benzodiazepínicos) e antipsicóticos são amplamente utilizados na síndrome de abstinência alcoólica (COOPER; VERNON, 2013), além de terem papel importante no tratamento da intoxicação aguda pelo uso de álcool. O DT é o sintoma mais característico de um quadro de abstinência alcoólica grave e ocorre em cerca de 10% dos pacientes (HOLT et al., 1980) e, se não for tratado pode ser letal em 15% dos pacientes (LEE et al., 2005). Nesse sentido, a ocorrência de episódios intensos e repetitivos de abstinência alcoólica em humanos pode resultar em comprometimento emocional, alteração no aprendizado e funções cognitivas (DUKA et al., 2004). Além disso, esses quadros tendem a piorar de acordo com a frequência com que ocorrem (BABOR; HIGGINS-BIDDLE, 2000).

A partir daí, o tratamento da síndrome de abstinência alcoólica consiste em tratar os sinais e sintomas apresentados pelo paciente. Um período crítico para a identificação do quadro e o início do tratamento é entre 24 e 48 horas após o consumo de etanol. Na desintoxicação, utiliza-se o diazepam ou outro benzodiazepínico de meia vida longa com o objetivo principal de diminuir a agitação e a ansiedade. Além disso, propõe-se o uso de antipsicóticos como o haloperidol e a risperidona (Figura 1) (COOPER; VERNON, 2013).

O uso de antipsicóticos, sobretudo o haloperidol, é importante em quadros de SAA associada ou não ao DT. O antagonismo competitivo de receptores D1, D2 e D4 diminui as complicações dos sinais. Algumas horas após o uso do etanol, pode-se iniciar o uso de dissulfiram e acamprosato. Após a primeira semana de início

desse tratamento, a manutenção é realizada através da redução das doses iniciais dessas drogas, com o objetivo de diminuir o *craving* e a ansiedade. Recomenda-se a utilização desses fármacos após o uso de benzodiazepínicos, já na fase de manutenção. Outros antipsicóticos, como a risperidona, podem ser utilizados. Porém, é importante ressaltar que ainda não há evidências que comprovam esse uso (NDARC, 2003). Sendo esse um dos fatores que justificam este trabalho. A identificação do quadro de síndrome de abstinência alcoólica grave em pacientes que chegam a um serviço de saúde é um passo fundamental para o sucesso do tratamento, diminuindo as chances de ocorrência de complicações mais graves e, para isso, é importante que o paciente seja submetido a métodos que possibilitem a avaliação desse quadro (MALDONADO et al., 2014).



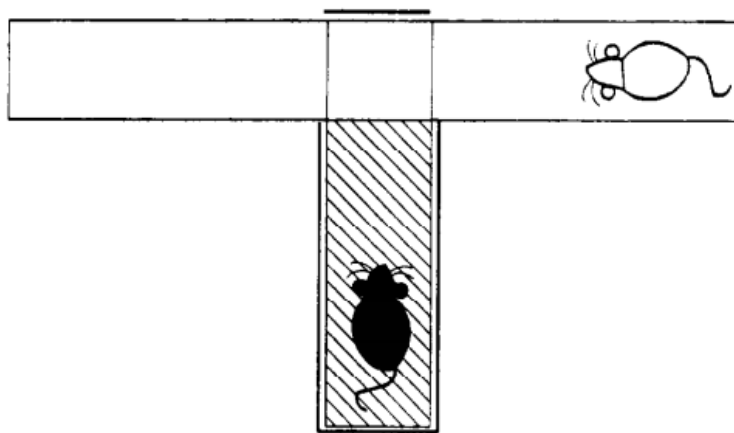
**Figura 1 – Estrutura de antipsicóticos utilizados na SAA.** Haloperidol (esquerda) e risperidona (direita). O haloperidol é um antipsicótico tricíclico com atividade sobre os receptores D1 e D2 de dopamina. Já a risperidona é um antipsicótico atípico, que atua sobre os receptores D4 e 5-HT<sub>2</sub>.

O uso de modelos animais como uma ferramenta para o estudo da abstinência e dependência de álcool apresenta os objetivos: servir como um modelo para o estudo da ingestão de bebida alcoólica em humanos; entender, por meio da observação de comportamentos, como a neuroquímica do SNC está relacionada com o uso do álcool e, também, estudar como o álcool atua sobre outros órgãos. O uso do álcool em animais mostrou que há ação sobre o sistema de recompensa dopaminérgico, evidenciado pelo fato que animais expostos à essa droga apresentam tendência de buscar a repetição do efeito provocado pelo uso seu uso. (PLANETA, 2013). Além disso, outro estudo com animais mostrou que a SAA causa neurodegeneração e morte celular (KALANT, 1977).

Nesse sentido, a indução da SAA é comumente utilizada como modelo em experimentação animal. Um dos modelos mais comuns de indução dessa síndrome

é o de modificação da dieta líquida. Esse modelo consiste na administração diária de uma solução contendo leite de vaca, vitamina A, sacarose e uma crescente concentração de álcool etílico (UZBAY; KAYAALP, 1995). Outro modelo envolve o acesso livre ou limitado à solução aquosa de etanol 10% (v/v), sendo esse o modelo utilizado neste trabalho (INGMAN et al., 2003).

Conforme exposto em relação aos sintomas da SAA, a ansiedade é um dos principais sintomas envolvidos com a recaída de indivíduos em abstinência e, por isso, vários modelos animais têm sido propostos para o seu estudo em laboratório. Um deles é o modelo do labirinto em T elevado - uma variação do labirinto em cruz elevado, que consiste em um aparato com três braços de igual tamanho – um fechado e dois abertos (Figura 2). Esse modelo permite avaliar o tempo que o animal gasta para realizar duas tarefas: esquiva inibitória e fuga, representando situações de medo condicionado e incondicionado, respectivamente. Assim, o modelo foi validado para o estudo de comportamentos ligados à ansiedade e ao medo (GRAEFF et al., 1996). Esse modelo experimental já foi utilizado para observar o efeito de agentes serotoninérgicos e outras drogas sobre o comportamento de animais (PINHEIRO et al., 2007). Porém, o seu uso na dependência e na síndrome de abstinência por drogas ainda não foi muito explorado, podendo representar uma importante ferramenta na avaliação comportamental em psicopatologia e a aplicação do mesmo na SAA pode auxiliar na investigação da participação da 5-HT como modulador de ansiedade nessa síndrome.



**Figura 2 – Labirinto em T elevado.**

## **2. OBJETIVO GERAL**

Investigar o efeito do tratamento subagudo (15 dias), na abstinência de etanol, de fármacos que alteram a neurotransmissão serotoninérgica, sobre o comportamento de animais em abstinência de álcool submetidos ao labirinto em T elevado (LTE).

### **2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Avaliar, a partir do uso do haloperidol (antipsicótico tricíclico) e da risperidona (antipsicótico atípico), a modulação da neurotransmissão dopaminérgica sobre a serotonina, verificando a latência (em s) dos comportamentos de esquiva e fuga de animais submetidos ao LTE, além da frequência de bolos fecais.
2. Investigar o efeito dos mesmos antipsicóticos sobre a frequência dos comportamentos de cruzamentos, levantamentos, auto-limpeza e de bolos fecais em animais submetidos ao campo aberto, no centro e na periferia do modelo.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados 30 ratos machos da linhagem Wistar, com peso entre 200 e 300g, provenientes do Laboratório de Processos Básicos em Psicologia da Universidade Católica de Brasília, divididos em três grupos, de acordo com a substância que foi administrada: haloperidol (n=10), risperidona (n=10) e solução NaCl 0.9% (n=10). Os animais foram alojados em caixas individuais, com livre acesso à água e ração durante os experimentos, com temperatura controlada ( $22 \pm 3$  °C). O alojamento em caixas individuais fez-se necessário para garantir o consumo de álcool por todos os animais.

Este trabalho está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento (SBNeC), obtendo aprovação dos Comitês de Ética para o uso de animais (CEUA) do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília (protocolo n. 9516/2014) e da Universidade Católica de Brasília.

#### **3.2 Drogas e doses**

As drogas utilizadas nesse trabalho foram as seguintes:

1. Solução de etanol 10%, diluída em água, administrada por via oral, com ingestão *ad libitum* na própria caixa individual.
2. Cloridrato de haloperidol, na dose de 10mg/kg (Cristália, Brasil), risperidona, na dose de 6mg/kg (Eurofarma, Brasil) e salina (NaCl 0.9%). As drogas foram diluídas em solução de NaCl 0.9% (Darow, Brasil), estéril, injetadas intraperitonealmente (ip), com um volume de 1mL.

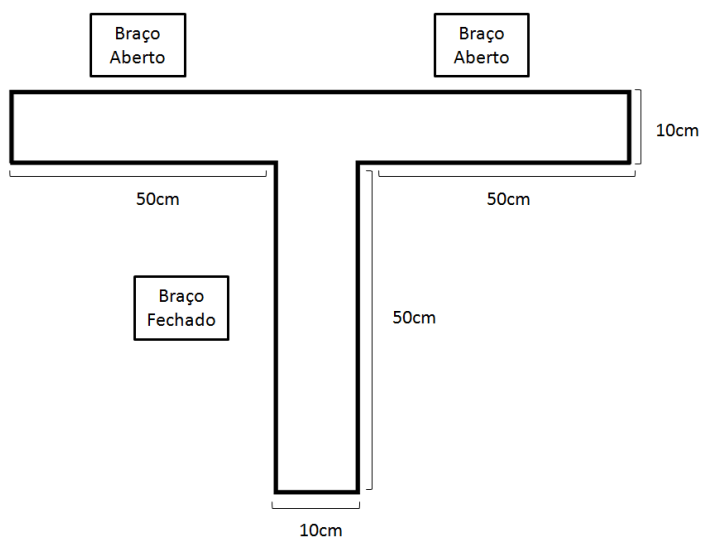
#### **3.3 Modelos Experimentais**

##### **3.3.1 Labirinto em T elevado**

O labirinto em T elevado é constituído por três braços de madeira de dimensões iguais (50cm de comprimento e 10cm de largura), elevados 50cm em relação ao solo por dois suportes de madeira. Um dos braços fechados é



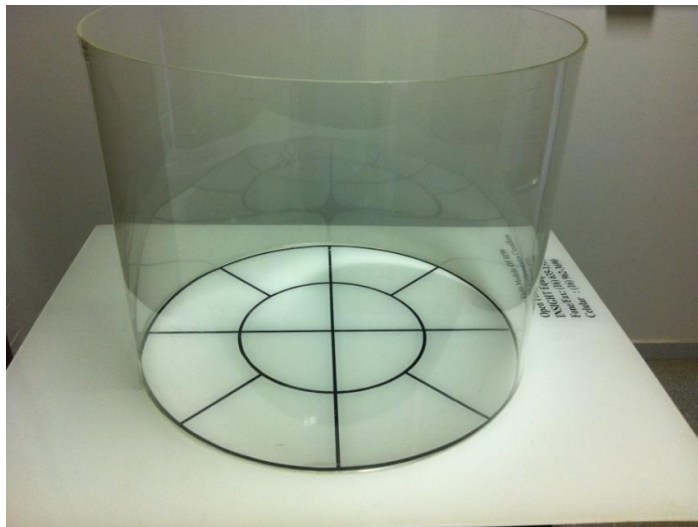
perpendicular aos outros dois, e possui paredes laterais de 40cm. Os dois braços abertos possuem uma pequena barreira de acrílico transparente de 1cm de altura para evitar a queda dos animais durante o experimento. O outro braço fechado possui uma barreira de madeira, impedindo o acesso dos animais (GRAEFF et al., 1998). Figura 3



**Figura 3 - Dimensões do labirinto em T elevado (LTE).**

### **3.3.2 Campo Aberto**

O campo aberto consiste em uma arena de forma circular, circundada por uma parede de acrílico transparente (50cm de altura e 90cm de diâmetro), tendo uma base quadrada, que mede 100cm x 100cm (PRUT; BELZUNG, 2003). Figura 4

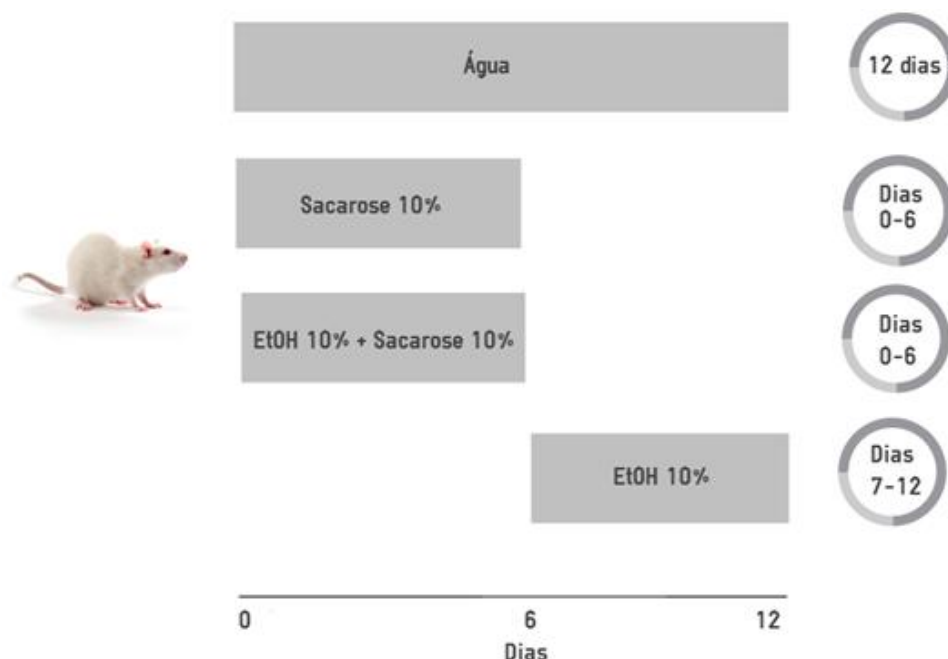


**Figura 4 – Campo aberto.**

### **3.4 Procedimentos**

#### **3.4.1 Procedimento piloto**

Com o objetivo de avaliar a preferência dos animais pela solução de etanol 10% para induzir um quadro de dependência de álcool e, posteriormente, realizar os testes comportamentais procedeu-se, inicialmente, a um experimento piloto com 3 animais. Cada animal teve livre acesso à água durante 12 dias. Durante os 6 primeiros dias também houve livre acesso à solução de sacarose 10% (m/v) e solução aquosa de sacarose 10% (m/v) e etanol 10% (v/v). A partir do sétimo dia, não houve acesso à solução de sacarose 10% e houve acesso apenas à água e solução de etanol 10% (Figura 5).



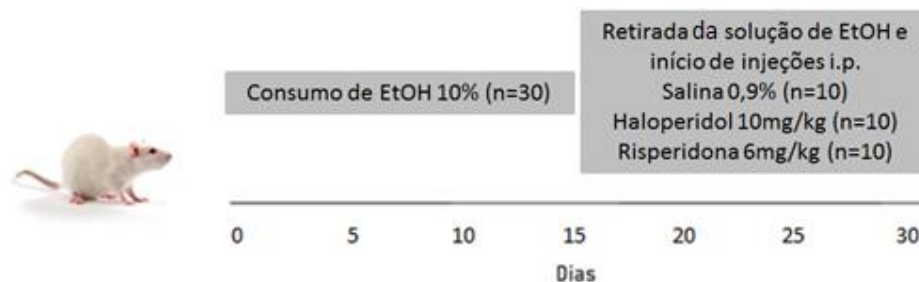
**Figura 5 - Esquema de administração de etanol no experimento piloto.**

### **3.4.2 Administração de etanol (Indução de dependência de álcool)**

Durante 15 dias, cada animal foi alojado em caixa individual e teve livre acesso à ração e solução de etanol 10% (INGMAN et al., 2003; APFEL et al., 2002). O volume de etanol consumido para cada um dos animais durante os 15 dias e os resultados para o consumo de álcool para cada um dos grupos durante o mesmo período estão apresentados na Figura 8. A solução de etanol 10% foi preparada a partir da diluição de álcool etílico comercial 70% (76°GL) em água.

### **3.4.3 Administração das drogas (Indução de abstinência de álcool)**

As drogas haloperidol e risperidona foram diluídas em solução de NaCl 0.9% para uma dose de 10mg/kg e 6mg/kg, respectivamente. Os animais receberam as substâncias via intraperitoneal (i.p.) durante 15 dias, após o fim da administração de álcool. Nesta fase do experimento, os animais foram reagrupados em caixas coletivas, ficando 4 animais em cada caixa.



**Figura 6 - Esquema de administração de etanol e tratamento da SAA nos animais.** Após os 15 dias de livre acesso à solução de etanol, os animais receberam injeções i.p. de solução salina, haloperidol ou risperidona durante 15 dias. No fim dos 30 dias, os animais foram submetidos aos modelos do LTE e campo aberto, respectivamente.

### 3.5 Testes comportamentais

#### 3.5.1 Labirinto em T elevado (LTE)

Os testes comportamentais foram realizados após 15 dias de tratamento com haloperidol ou risperidona ou salina. Para a realização do teste, cada animal foi retirado da caixa coletiva e alojado em uma caixa individual. Inicialmente, o animal foi colocado na extremidade do braço fechado, sendo verificadas três medidas de latência de esquiva inibitória (esquivas 1, 2 e 3) – tempo (em s) que o animal leva para sair da extremidade do braço fechado e atingir um dos braços abertos do labirinto, com as quatro patas, andando ou correndo. Em seguida, o mesmo animal foi colocado na extremidade de um dos braços abertos (com alternância entre as medidas), sendo verificadas três medidas de latência de fuga (fugas 1, 2 e 3) – tempo (em s) que o animal leva para deixar a extremidade de um dos braços abertos em que foi colocado inicialmente até atingir o braço fechado do labirinto com as quatro patas, andando ou correndo. A avaliação de cada parâmetro (esquiva e fuga) foi realizada com um intervalo de 30 segundos entre cada observação, ficando os animais na caixa individual. Durante a realização dos testes utilizou-se o tempo de tolerância máxima de cinco minutos para a ocorrência do comportamento (GRAEFF et al., 1998). Para cada um dos animais verificou-se também a frequência de bolos fecais em cada um dos braços do labirinto como um indicativo de comportamento relacionado a uma situação de estresse e ansiedade (ENNANCEUR et al., 2006).

### **3.5.2 Campo aberto**

Após o término do experimento no LTE, cada animal foi submetido ao campo aberto para avaliação dos comportamentos e uma possível indução de efeito sedativo. Cada animal foi colocado no centro do campo aberto e teve livre acesso para explorar a arena durante 5 minutos. Nesse teste, os seguintes parâmetros foram avaliados: frequência de cruzamentos no centro e na periferia (número de vezes que o animal cruza os quadrantes do modelo com as quatro patas, andando ou correndo), frequência de levantamentos no centro e na periferia (número de vezes que o animal permanece sobre as patas traseiras, apoiando ou não as dianteiras na parede da arena) e frequência de auto-limpeza (número de vezes que o animal executa o repertório de auto-limpeza com as patas dianteiras e/ou lambendo-se, iniciando pela cabeça, passando pelo tronco e terminando nos genitais). Para cada animal verificou-se também a frequência de bolos fecais na arena.

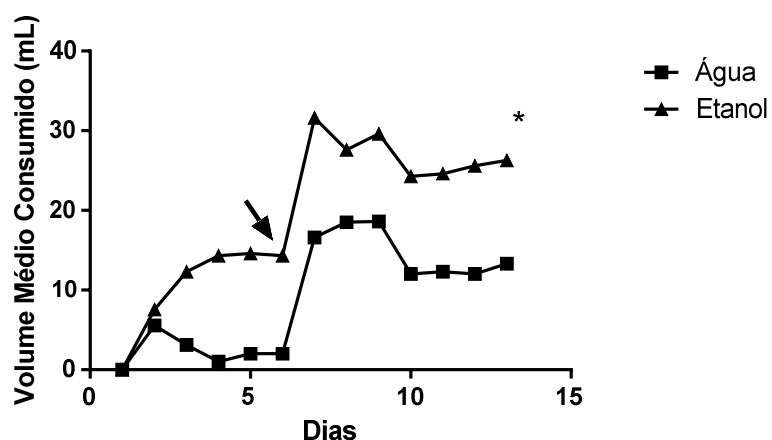
### **3.6 Análise estatística**

A análise dos dados obtidos nos experimentos foi realizada através do software GraphPad Prism<sup>®</sup> versão 6, por meio da análise de variância de uma via (ANOVA One-way), seguida pelo teste *Student Newman-Keuls* ( $p \leq 0,05$ ), para verificar a diferença entre os tratamentos; análise de variância de medidas repetidas (ANOVA repeated-measures), seguida pelo teste *Student Newman-Keuls*, ( $p \leq 0,05$ ), para avaliar a diferença entre as medidas repetidas em um mesmo grupo (esquivas 1, 2 e 3 e fugas 1, 2 e 3). Quando os dados não apresentaram distribuição dentro da curva de normalidade, foi feita a análise de variância não-paramétrica Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ). A análise estatística do experimento piloto foi realizada por meio do teste t não pareado de *Student* ( $p \leq 0,05$ ).

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Procedimento piloto

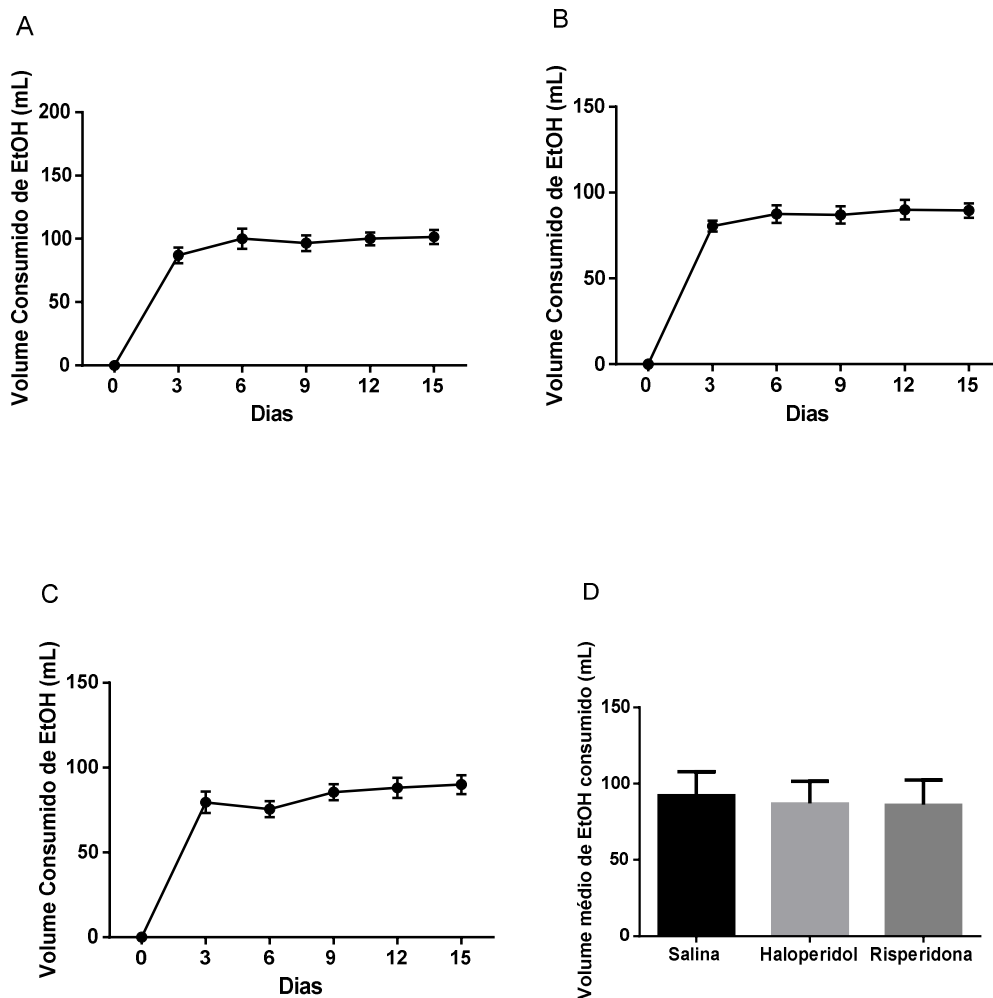
O teste t não pareado de *Student* mostrou que houve diferença entre o volume total de etanol ( $\bar{x} = 19,4$ ; EPM = 2,65) e água ( $\bar{x} = 8,69$ ; EPM = 2,02) consumidos ( $t = 3,18$ ;  $p = 0,004$ ). Esses resultados apontam a preferência dos animais pela solução de etanol.



**Figura 7 – Preferência pela solução de etanol 10%.** Volume médio (em mL) consumido pelos 3 animais durante os 12 dias de experimento. A seta representa o último dia de livre acesso à solução de sacarose. (\*  $p = 0,004$ ).

### 4.2 Administração de etanol

Todos os animais utilizados nesse estudo receberam solução de etanol 10% durante 15 dias consecutivos. O volume médio consumido (em mL) por cada animal dos grupos salina (Figura 8A) ( $\bar{x} = 97$ ; EPM = 6,25), haloperidol (Figura 8B) ( $\bar{x} = 86,9$ ; EPM = 4,66) e risperidona (Figura 8C) ( $\bar{x} = 83,7$ ; EPM = 5,51) estão apresentados na Figura 4. De acordo com a ANOVA de uma via não houve diferença estatisticamente significativa entre o volume médio de etanol consumido pelos animais de cada grupo ( $F = 2,44$ ;  $p = 0,08$ ). Figura 8D



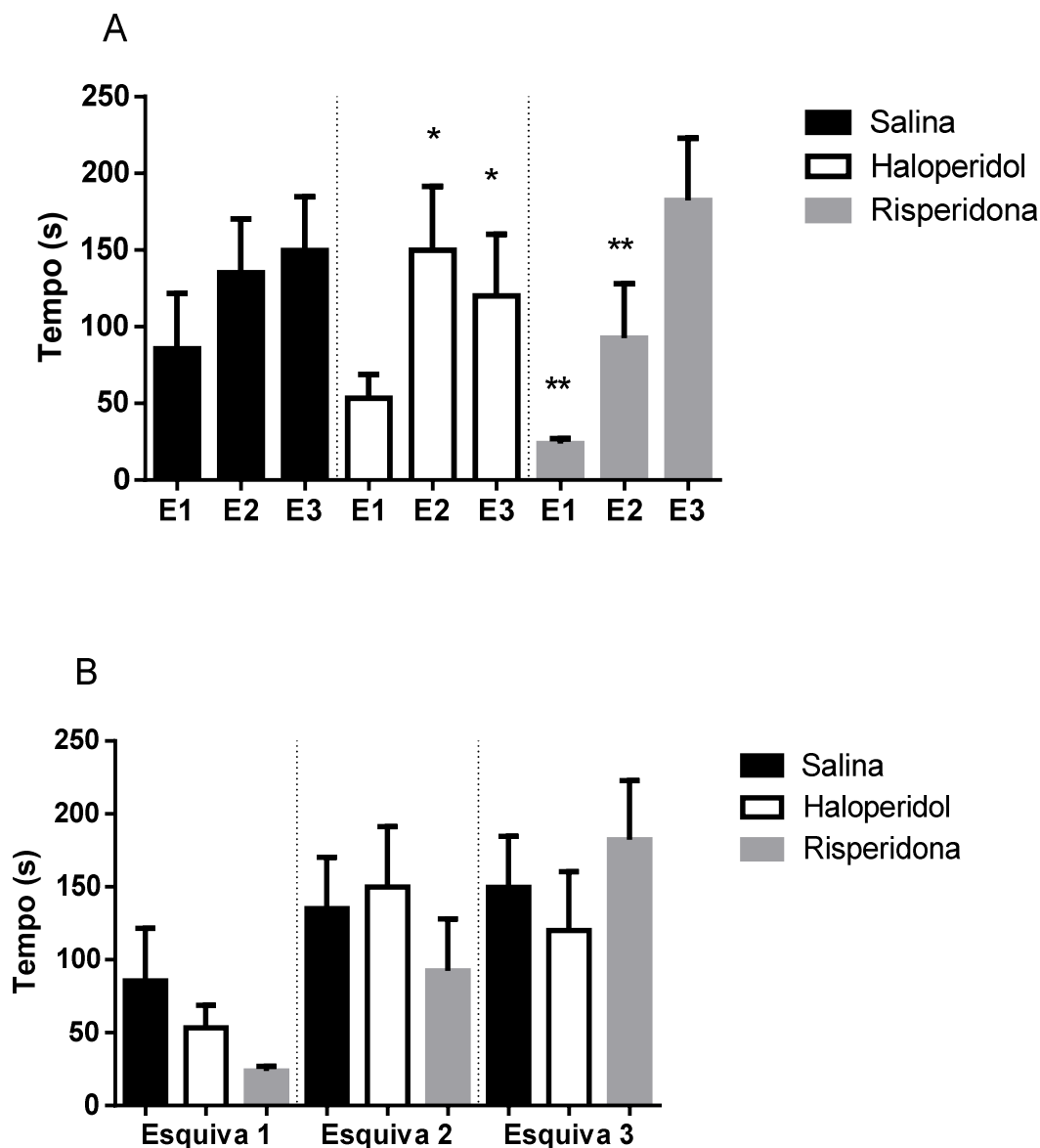
**Figura 8 - Volume (mL) de etanol 10% consumido pelos animais durante 15 dias.** O volume médio (mL) consumido pelos animais do grupo (A) salina (n = 10), (B) haloperidol (n = 10) e (C) risperidona (n = 10) estão representados. Cada ponto representa o valor médio consumido pelos animais do grupo; as barras representam o EPM. (D) Volume médio consumido pelos animais de cada um dos grupos em um período de 3 dias. As colunas representam o volume médio e as barras o EPM (p = 0,08).

#### 4.3 Labirinto em T elevado

Com relação à latência de esquiva do braço fechado do LTE (em s), a ANOVA one-way de medidas repetidas, seguida pelo teste de *Student Newman-Keuls*, mostrou que o aumento observado ao longo das tentativas foi estatisticamente significativa para os grupos haloperidol (Esquiva 1:  $\bar{x}$  = 53,3; EPM = 15,6; Esquiva 2:  $\bar{x}$  = 149,9; EPM = 41,5; Esquiva 3:  $\bar{x}$  = 120,1; EPM = 40,2) ( $F_{(2,10)}$  = 5,16 e p = 0,01) e risperidona (Esquiva 1:  $\bar{x}$  = 23,6; EPM = 3,42; Esquiva 2:  $\bar{x}$  = 92,4;

EPM = 35,6; Esquiva 3:  $\bar{x}$  = 182,2; EPM = 40,54) ( $F_{(2,10)} = 8,98$ ;  $p = 0,001$ ). Não foi observada diferença entre as repetições da latência esquiva para o grupo salina (Esquiva 1:  $\bar{x}$  = 85,6; EPM = 35,9; Esquiva 2:  $\bar{x}$  = 135,1; EPM = 35,3; Esquiva 3:  $\bar{x}$  = 149,7; EPM = 34,9) ( $F_{(2,10)} = 3,2$ ;  $p = 0,06$ ). A ANOVA one-way, seguida pelo teste de *Student Newman-Keuls*, não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle (salina) e as drogas (haloperidol e risperidona) para a esquiva 1 ( $F_{(2,10)} = 1,87$ ;  $p = 0,17$ ), esquiva 2 ( $F_{(2,10)} = 0,63$ ;  $p = 0,54$ ) e esquiva 3 ( $F_{(2,10)} = 0,64$ ;  $p = 0,53$ ). Figura 9

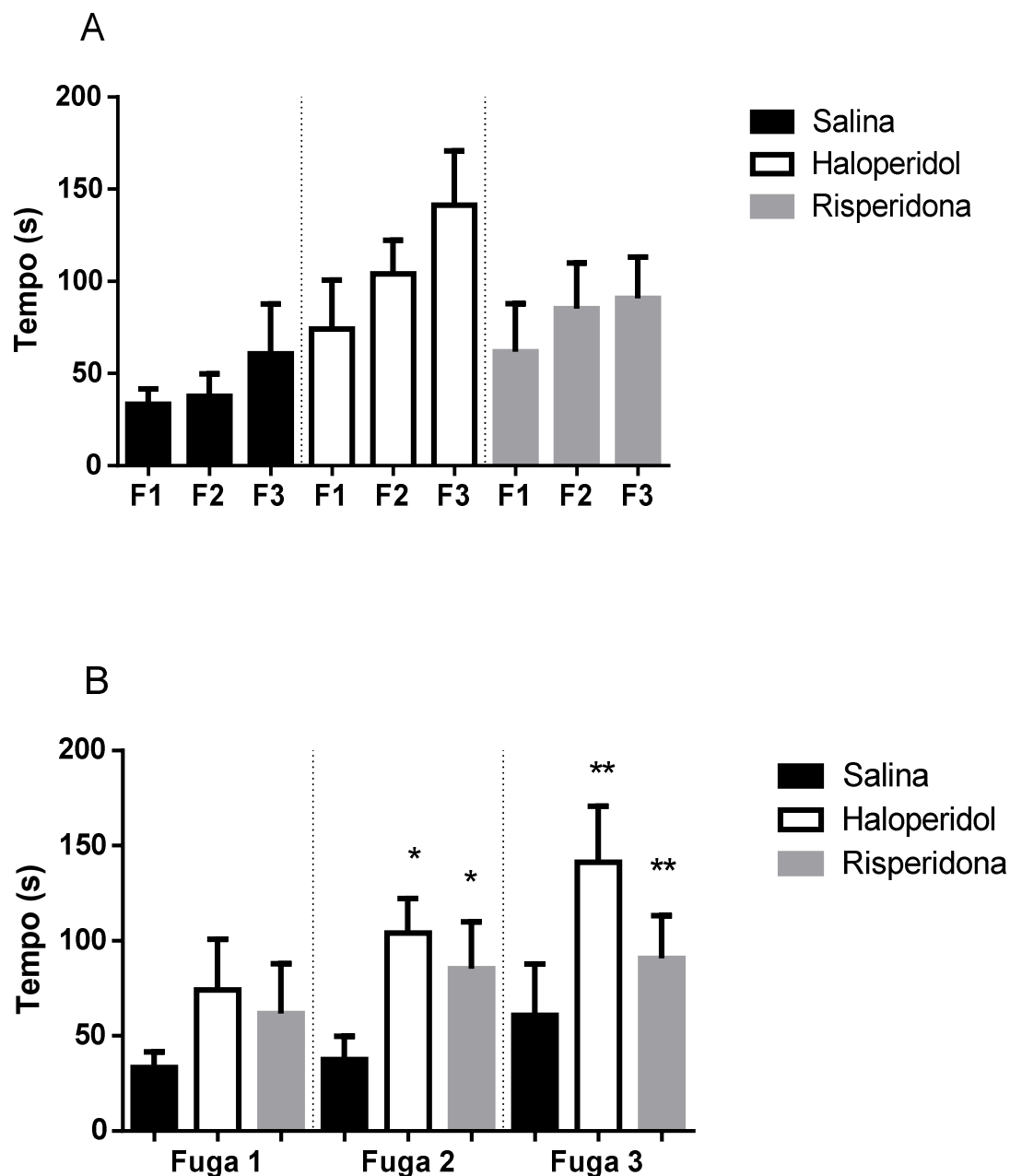




**Figura 9 - Latência de esquiva inibitória para cada um dos grupos estudados.** Média  $\pm$  EPM da latência (em s) de esquiva do braço fechado do LTE (Esquivas 1, 2 e 3) de ratos submetidos à administração ip de salina 0.9%, haloperidol 10mg/kg e risperidona 6mg/kg, por 15 dias. (A) – Comparação entre as esquivas 1 (E1), 2 (E2) e 3 (E3) dos animais do mesmo grupo (B) – Comparação entre tratamentos nas esquivas 1, 2 e 3 (\*  $p = 0,01$  e \*\*  $p = 0,001$  entre as repetições observadas).

Com relação à latência a fuga de um dos braços abertos do (em s), a análise de variância de uma via de medidas repetidas, seguida pelo teste de *Student Newman-Keuls*, mostrou que não houve variação ao longo das tentativas para os grupos haloperidol (Fuga 1:  $\bar{x} = 74$ ; EPM = 26,8; Fuga 2:  $\bar{x} = 104,1$ ; EPM = 18,1; Fuga 3:  $\bar{x} = 141,2$ ; EPM = 29,5) ( $F_{(2,10)} = 2,32$  e  $p = 0,12$ ) e risperidona (Fuga 1:  $\bar{x} =$

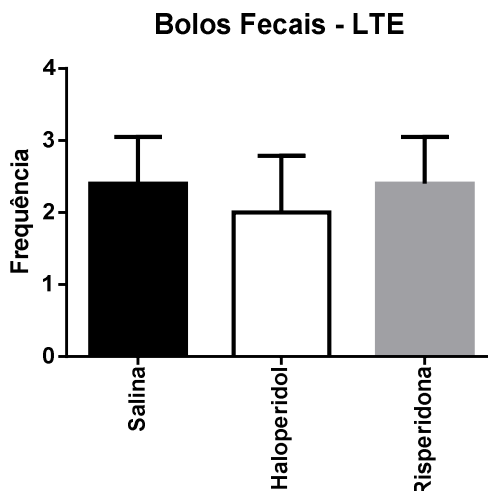
61,8; EPM = 26,1; Fuga 2:  $\bar{x}$  = 85,2; EPM = 24,8; Fuga 3:  $\bar{x}$  = 90,8; EPM = 22,4) ( $F_{(2,10)} = 0,56$  e  $p = 0,57$ ) e salina (Fuga 1:  $\bar{x}$  = 33,4; EPM = 8,26; Fuga 2:  $\bar{x}$  = 37,6; EPM = 12,14; Fuga 3:  $\bar{x}$  = 60,7; EPM = 27,04) ( $F_{(2,10)} = 0,90$  e  $p = 0,42$ ). A ANOVA one-way, seguida pelo teste de *Student Newman-Keuls*, mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle (salina) e as drogas (haloperidol e risperidona) para a fuga 2 ( $F_{(2,10)} = 3,23$  e  $p = 0,055$ ), mas não para a fuga 1 ( $F_{(2,10)} = 0,88$  e  $p = 0,42$ ) e fuga 3 ( $F_{(2,10)} = 2,36$  e  $p = 0,11$ ). Com relação à latência para a fuga 3, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de *Student Newman-Keuls*, mostrou que o aumento nessa medida observada para os tratamentos foi estatisticamente significativa (Salina: mediana = 40; Haloperidol: mediana = 132; Risperidona: mediana = 64;  $H = 6,22$  e  $p = 0,04$ ) Figura 10.



**Figura 10 - Latência de fuga para cada um dos grupos estudados.** Média  $\pm$  EPM da latência (s) de saída de um dos braços abertos do LTE (Fuga 1, 2 e 3) de ratos submetidos à administração ip de salina 0.9%, haloperidol 10mg/kg e risperidona 6mg/kg, por 15 dias. (A) – Comparação entre as fugas 1 (F1), 2 (F2) e 3 (F3) dos animais do mesmo grupo (B) – Comparação entre tratamentos nas fugas 1, 2 e 3 (\*  $p \leq 0,05$  e \*\*  $p = 0.04$  entre as repetições observadas com relação ao grupo salina).

A ANOVA one-way mostrou que não houve diferença significativa entre a frequência de bolos fecais verificados no LTE para o grupo os diferentes grupos

(salina:  $\bar{x} = 2,4$ ; EPM = 0,61; haloperidol:  $\bar{x} = 2,0$ ; EPM = 0,74; risperidona:  $\bar{x} = 2,4$ ; EPM = 0,61) ( $F_{(2,10)} = 0,10$ ;  $p = 0,89$ ). Figura 11

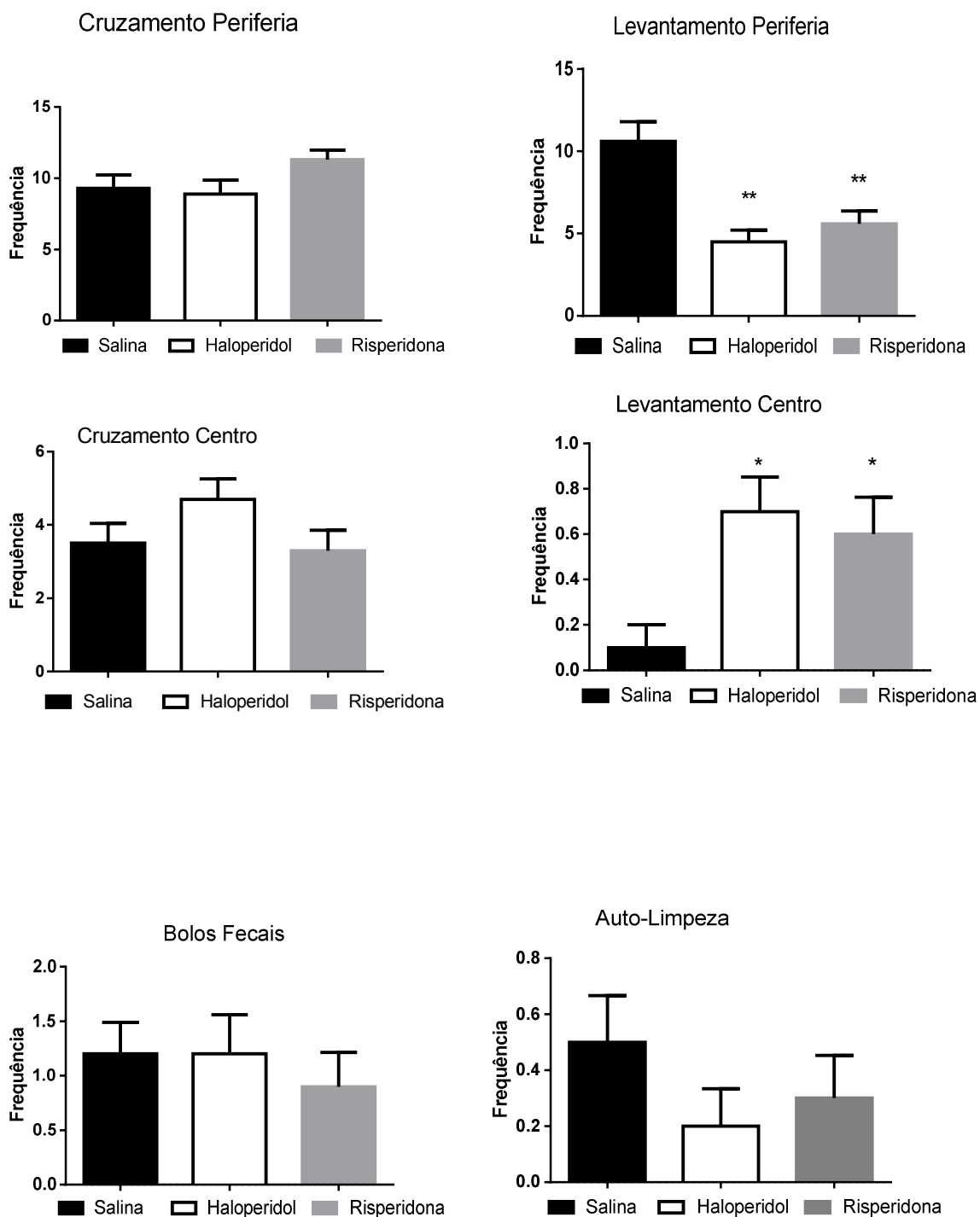


**Figura 11 – Frequência de bolos fecais nos braços abertos e fechado do LTE.** As colunas representam a média de bolos fecais nos braços do LTE e as barras o EPM.

#### 4.4 Campo aberto

A ANOVA one-way não demonstrou nenhuma diferença estatisticamente significativa para as seguintes frequências obtidas: cruzamentos na periferia da arena (salina:  $\bar{x} = 9,3$ ; EPM = 0,89; haloperidol:  $\bar{x} = 8,9$ ; EPM = 0,93; risperidona:  $\bar{x} = 11,3$ ; EPM = 0,6;  $F_{(2,30)} = 2,13$ ;  $p = 0,13$ ), cruzamentos no centro (salina:  $\bar{x} = 3,5$ ; EPM = 0,51; haloperidol:  $\bar{x} = 4,7$ ; EPM = 0,53; risperidona:  $\bar{x} = 3,3$ ; EPM = 0,54;  $F_{(2,30)} = 1,87$ ;  $p = 0,17$ ) e auto-limpeza (salina:  $\bar{x} = 0,5$ ; EPM = 0,15; haloperidol:  $\bar{x} = 0,2$ ; EPM = 0,12; risperidona:  $\bar{x} = 0,3$ ; EPM = 0,14;  $F_{(2,30)} = 1,01$ ;  $p = 0,37$ ). Quanto aos levantamentos na periferia, verificou-se que houve diminuição estatisticamente significativa da frequência para os grupos haloperidol e risperidona quando comparadas ao grupo salina (salina:  $\bar{x} = 10,6$ ; EPM = 1,14; haloperidol:  $\bar{x} = 4,5$ ; EPM = 0,66; risperidona:  $\bar{x} = 5,6$ ; EPM = 0,73;  $F_{(2,30)} = 12,45$ ;  $p = 0,0001$ ). Ao contrário, verificou-se um aumento estatisticamente significativo da frequência de levantamentos no centro para os grupos haloperidol e risperidona em relação à salina (salina:  $\bar{x} = 0,1$ ; EPM = 0,09; haloperidol:  $\bar{x} = 0,7$ ; EPM = 0,14; risperidona:  $\bar{x} = 0,6$ ; EPM = 0,15;  $F_{(2,30)} = 5,16$ ;  $p = 0,01$ ). Figura 12

Com relação à frequência de bolos fecais no campo aberto, a ANOVA one-way, seguida pelo teste de *Student Newman-Keuls*, mostrou que não houve diferença entre os grupos salina ( $\bar{x} = 1,2$ ; EPM = 0,29), haloperidol ( $\bar{x} = 1,2$ ; EPM = 0,35) e risperidona ( $\bar{x} = 0,9$ ; EPM = 0,31) ( $F_{(2,30)} = 0,28$ ;  $p = 0,75$ ).



**Figura 12 - Avaliação da frequência de comportamentos no campo aberto.** Frequência de comportamentos avaliados para cada um dos grupos submetidos ao modelo do campo aberto após o LTE. Média  $\pm$  EPM da frequência de comportamentos observados no campo aberto (\*  $p = 0,01$  e \*\*  $p = 0,0001$ . Diferença entre os grupos salina e haloperidol ou risperidona).

## 5. DISCUSSÃO

O uso dos dois antipsicóticos utilizados neste trabalho, haloperidol e risperidona, alterou os comportamentos observados no LTE. Essas alterações podem ser consequência da atuação dessas drogas na neurotransmissão serotoninérgica e dopaminérgica, denotando a participação desses neurotransmissores na abstinência do álcool.

A partir dos resultados apresentados com relação ao consumo de etanol, foi possível observar a preferência dessa solução em detrimento de outras, como água e solução de sacarose (Figura 7). O procedimento de administração de álcool mais comum é através da modificação de dieta líquida (UZBAY; KAYAALP, 1995). Porém, neste trabalho, foi utilizada a administração de etanol 10% durante 15 dias (INGMAN et al., 2003; APFEL et al., 2002), sendo possível observar o consumo de um volume constante dessa solução durante todo o período observado (Figura 8A, B e C). A concentração da solução de etanol é um dos fatores determinantes para o sucesso de intoxicação e dependência de álcool, sendo o tempo de exposição uma variável secundária (PIERCE et al., 1999). Porém, para induzir um quadro de intoxicação mais severo, causando alterações morfológicas em corpos celulares, é necessário que o animal entre em contato com a solução de etanol por pelo menos 4 semanas (APFEL et al., 2002).

Com relação à latência de esquiva (Figura 9) o para os grupos haloperidol e risperidona indica que houve o processo de aprendizado necessário para a realização da esquiva inibitória (GRAEFF et al., 1996). Além disso, esse resultado pode indicar um efeito ansiogênico, podendo ser explicado pelo mecanismo de ação dessas drogas. A ação antagonista competitiva da risperidona sobre os receptores 5-HT<sub>2</sub> pode ter facilitado a esquiva inibitória (medo condicionado). Além dessa ação, tanto a risperidona quanto o haloperidol são antagonistas competitivos dopaminérgicos, predominantemente, em receptores D4 e D2, respectivamente. No contexto da dependência pelo uso do álcool ocorre a ativação da via mesolímbica dopaminérgica, aumentando os níveis desse neurotransmissor. Ao contrário, sob efeito desses fármacos, a diminuição da ação dopaminérgica pode ter precipitado um sintoma diretamente envolvido com a SAA, a ansiedade (GRAEFF et al., 1996), tendo relação direta com o achado neste trabalho.

Com relação aos resultados verificados para a latência de fuga (Figura 10), houve aumento para os grupos haloperidol e risperidona, podendo ter relação com antagonismo competitivo da dopamina e da serotonina (ROGOZ; SKUZA, 2011).

Tomados em conjunto, os resultados envolvendo os comportamentos de esquiva e fuga sugerem que as alterações observadas nos grupos haloperidol e risperidona, ou seja, o aumento das latências de esquiva e fuga podem ter relação com o antagonismo competitivo de receptores dopaminérgicos promovido pelas drogas utilizadas, indicando que a dopamina desempenha um papel importante nesses comportamentos. Considerando o aumento na latência de esquiva, pode-se pensar que o antagonismo competitivo dos receptores dopaminérgicos induziu um efeito ansiogênico sobre o comportamento dos animais dos grupos haloperidol e risperidona no LTE. Entendendo que a esquiva inibitória é um comportamento relacionado com a aprendizagem, o antagonismo dos receptores dopaminérgicos nas vias associadas a esse processo (mesolímbica e mesocortical) pode ter favorecido o aumento na latência de esquiva. Além disso, a exposição a eventos aversivos resulta em aumento dos níveis de dopamina nas estruturas das vias mesolímbica e mesocortical (como amígdala e córtex pré-frontal - DE OLIVEIRA et al., 2011; CUADRA et al., 2000) e o antagonismo competitivo de receptores dopaminérgicos nessas vias mediado pelas drogas utilizadas nesse estudo resultou em um efeito ansiogênico.

Já em relação ao aumento na latência de fuga dos braços abertos do LTE, avaliação que envolve a colocação do animal diretamente em uma situação aversiva e que não envolve aprendizagem (medo incondicionado - luta ou fuga), o antagonismo competitivo de receptores de dopamina nas vias neurais relacionadas a esse comportamento (mesolímbica) resultou em um efeito ansiolítico (ROGOZ; SKUZA, 2011).

Considerando que o modelo do LTE foi validado para o estudo da ansiedade, sintoma presente no quadro de SAA, a diversidade de receptores serotoninérgicos envolvidos nessas vias de sinalização resultam em um processo complexo e, assim, a natureza exata do envolvimento desse neurotransmissor na ansiedade é contraditório. Levando em conta as diferenças anatômicas e funcionais das vias serotoninérgicas, foi proposto que a serotonina apresenta um papel dual na



ansiedade, induzindo uma ação ansiogênica na via que envolve os núcleos da rafe até a amígdala e ansiolítico na via com início nos núcleos da rafe e término na substância cinzenta periaquedutal dorsal. Nesse sentido, o uso da risperidona (antagonista competitivo de receptores 5-HT<sub>2</sub>), neste trabalho, foi uma ferramenta relevante para a investigação desse papel dual da 5-HT na SAA. Na clínica, os antipsicóticos atípicos são eficazes na diminuição dos sintomas positivos e negativos presentes na esquizofrenia. Paralelamente, a ação da 5-HT na SAA também pode ser interessante na redução de sintomas comuns aos da esquizofrenia, como rebaixamento de humor e ansiedade (KIM; STAHL, 2010), indo ao encontro do efeito ansiolítico verificado pelo prejuízo no comportamento de fuga.

Nesse sentido, as observações dos comportamentos de esquiva e fuga podem se relacionar com diferentes tipos de ansiedade, um deles relacionado com memória e aprendizagem (esquiva) e o outro envolvido com um processo incondicionado (fuga). Ambos os tipos de ansiedade podem estar presentes na SAA. A partir dos resultados obtidos, pode-se pensar que as drogas utilizadas neste trabalho atuariam sobre o processo incondicionado e, ao contrário, evidenciariam a ansiedade aprendida. Esse achado apontaria para uma possível utilização dessas drogas no tratamento da ansiedade envolvendo reações de alerta ou stress agudo ou, ainda, crises de pânico, típicas da ativação do sistema neurovegetativo simpático, presentes na SAA, enquanto que não seriam eficazes no tratamento da ansiedade envolvendo aspectos cognitivos ou stress crônico (DE LA MORA et al., 2010; DUVARCI; PARE, 2014).

A utilização do modelo do campo aberto após os experimentos no LTE não evidenciou alteração na frequência de cruzamentos, indicando que os efeitos observados no LTE não são consequência de sedação (comprometimento motor) dos animais. Além disso, houve diminuição nas frequências de levantamento na periferia e no centro induzido pelo haloperidol e pela risperidona e salina, corroborando o aumento na latência de fuga observada no LTE, ou seja, um efeito ansiolítico. Isso está de acordo com PRUT e BELZUNG (2003), propondo que a atividade motora no centro do modelo é mais seletiva para o estudo da ansiedade, enquanto que a movimentação na periferia do aparato seria um indicador da atividade exploratória do animal.

## 6. CONCLUSÕES, LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

- O uso de antipsicóticos (haloperidol e risperidona) para o tratamento de animais em abstinência de álcool resultou na alteração de comportamentos desses animais observados no LTE, representados pelo aumento nas latências de esquiva e fuga.
- Considerando que o LTE é um modelo para o estudo da ansiedade, sugere-se o uso desse modelo para a avaliação desse comportamento em animais em abstinência alcoólica utilizando outras drogas que atuem sobre a neurotransmissão serotoninérgica, como inibidores seletivos da recaptação de serotonina e buspirona.
- Considerando o tempo disponível para a realização desse trabalho, os animais tiveram acesso à solução de etanol por apenas 15 dias. Assim sugere-se também um período mais prolongado de acesso à essa solução para posterior avaliação do quadro de abstinência no LTE.
- Este trabalho tem sua relevância à medida que propõe o uso do modelo LTE para avaliação do quadro de abstinência de álcool em animais, a partir da utilização de drogas que atuam direta e indiretamente na neurotransmissão dopaminérgica e serotoninérgica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. DSM V. Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 5a edição; Arlington, VA, American Psychiatric Publishing, 2013.

APFEL, M. I. R.; ÉSBERARD, C. A.; PEREIRA RODRIGUES, F. K.; BAHAMAD, F. M. J.; SILLERO, R. O. Estudo estereológico das células de Purkinje cerebelares submetidas à intoxicação alcoólica em ratos Wistar. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo , v. 60, n. 2A, p 258-263. 2002.

ATTWOOD, A. S.; MUNAFO, M. R. Effects of acute alcohol consumption and processing of emotion in faces: Implications for understanding alcohol-related aggression. **Journal of Psychopharmacology**. Published online before print. 2014.

BABOR, T. F.; HIGGINS-BIDDLE, J. C. Alcohol screening and brief intervention: dissemination strategies for medical practice and public health. **Addiction**, v. 95, n. 5, p. 677-686, 2000.

CLARK, D. B.; LYNCH, K. G.; DONOVAN, J. E.; BLOCK, G.D. Health problems in adolescents with alcohol use disorders: self-report, liver injury, and physical examination findings and correlates. **Alcohol Clinical and Experimental Research**, v. 25, n. 9, p. 1350-1359, 2001.

COOPER, E.; VERNON, J. The effectiveness of pharmacological approaches in the treatment of alcohol withdrawal syndrome (AWS): a literature review. **Journal of Psychiatric Mental Health Nursing**, v. 20, n. 7, p. 601-612, 2013.

CUADRA, G.; ZURITA, A.; MACEDO, C. E.; MOLINA, V. A.; BRANDÃO, M. L. Electrical stimulation of the midbrain tectum enhances dopamine release in the

frontal cortex. **Brain Research Bulletin**, v. 52, n. 5, p. 413-418, 2000.

DE LA MORA, M. P.; GALLEGOS-CARI A.; ARIZMENDI-GARCIA, Y.; MARCELLINO, D.; FUXE K. Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of fear and anxiety: structural and functional analysis. **Progress in Neurobiology**, v. 90, n. 2, p. 198-216, 2010.

DE OLIVEIRA, A. R.; REIMER, A. E.; DE MACEDO, C. E.; DE CARVALHO, M. C.; SILVA, M. A.; BRANDÃO, M. L. Conditioned fear is modulated by D2 receptor pathway connecting the ventral tegmental area and basolateral amygdala. **Neurobiological Learning and Memory**, v. 95, n. 1, p. 37-45, 2011.

DEES, W. L.; SKELLEY, C. W. Effects of ethanol during the onset of female puberty. **Neuroendocrinology**, v. 51, n. 1, p. 64-69, 1990.

DEES, W. L.; SRIVASTAVA, V. K.; HINEY, J. K. Alcohol and female puberty: the role of intraovarian systems. **Alcohol Research Health**, v. 25, n. 4, p. 271-275, 2001.

DUKA, T. GENTRY, J.; MALCOLM, R.; RIPLEY, T. L.; BORLIKOVA, G.; STEPHENS, D. N.; VEATCH, L. M.; BECKER, H. C.; CREWS, F. T. Consequences of multiple withdrawals from alcohol. **Alcohol Clinical and Experimental Research**, v. 28, n. 2, p. 233-246, 2004.

DUVARCI, S.; PARE, D. Amygdala microcircuits controlling learned fear. **Neuron**, v. 82, n. 5, p. 966-980, 2014.

ELGAN, C.; DYKES, A. K.; SAMSIOE, G. Bone mineral density and lifestyle among female students aged 16-24 years. **Gynecological Endocrinology**, v. 16, n. 2, p. 91-98, 2002.

ENNANCEUR, A; MICHALIKOVAA, S; CHAZOT, P. L. Models of anxiety: responses of rats to novelty in an open space and an enclosed space. **Behavioural Brain Research**. v. 171. p. 26–49. 2006.

FRIAS, J. RODRIGUEZ, R.; TORRES, J. M.; RUIZ, E.; ORTEGA, E. Effects of acute alcohol intoxication on pituitary-gonadal axis hormones, pituitary-adrenal axis hormones, beta-endorphin and prolactin in human adolescents of both sexes. **Life Sciences**, v. 67, n. 9, p. 1081-1086, 2000.

GRAEFF, F. G; GUIMARES, F. S; DE ANDRADE, T. G; DEAKIN, J. F. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. . **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 54, n. 1, p. 129-141,1996.

GRAEFF, F. G.; NETTO, C. F.; ZANGROSSI, H., JR. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. **Neurosciences and Biobehavioural Reviews**, v. 23, n. 2, p. 237-246, 1998.

HOLT, S. STEWART, I. C.; DIXON, J.M.; ELTON, R. A.; TAYLOR, T. V.; LITTLE, K. Alcohol and the emergency service patient. **British Medical Journal**, v. 281, n. 6241, p. 638-640, 1980.

INGMAN, K. HONKANEN, A.; HYYTIA, P.; HUTTUNEM, M. O.; KORPI, E. R. Risperidone reduces limited access alcohol drinking in alcohol-preferring rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 468, n. 2, p. 121-127, 2003.

KIM, D. H.; STAHL, S. M. Antipsychotic drug development. **Current Topics in Behavior Neuroscience**, v. 4, p. 123-39, 2010.

KALANT, H. Alcohol withdrawal syndromes in the human: comparison with animal models. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 85B, p. 57-64, 1977.

LEE, J. H.; JANG, M.K.; LEE, J. Y.; KIM, S. M.; KIM, K. H.; PARK, J.Y.; LEE, J. H.; KIM, H. Y.; YOO, J.Y. Clinical predictors for delirium tremens in alcohol dependence. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 20, n. 12, p. 1833-1837, 2005.

MALDONADO, J. R.; SHER, Y.; ASHOURI, J. F.; HILLS-EVANS, K.; SWENDSEN, H.; LOLAK, S.; MILLER, A. C. The "Prediction of Alcohol Withdrawal Severity Scale" (PAWSS): systematic literature review and pilot study of a new scale for the prediction of complicated alcohol withdrawal syndrome. **Alcohol**, v. 48, n. 4, p. 375-390, 2014.

MORSE, R. M.; FLAVIN, D. K. The definition of alcoholism. The Joint Committee of the National Council on Alcoholism and Drug Dependence and the American Society of Addiction Medicine to study the definition and criteria for the diagnosis of alcoholism. **JAMA**, v. 268, n. 8, p. 1012-1014, 1992.

Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Coordenação Nacional de DST/Aids. A Política do Ministério da Saúde para atenção integral a usuários de álcool e outras drogas / Ministério da Saúde, Secretaria Executiva, Coordenação Nacional de DST e Aids. – Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

NDARC - National Drug and Alcohol Research Centre. **Treatment of alcohol problems**. Commonwealth of Australia. ISBN 0 642 82383 9. 2003.

PIERCE, D. R; WILLIAMS D. K; LIGHT K. E. Purkinje cell vulnerability to developmental ethanol exposure in the rat cerebellum. **Alcohol Clinical and Experimental Research**. 23:1650-1659. 1999.

PINHEIRO, S. H. ZANGROSSI, H. J.; DEL-BEN, C. M.; GRAEFF, F. G. Elevated

mazes as animal models of anxiety: effects of serotonergic agents. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 79, n. 1, p. 71-85, 2007.

PLANETA, C. S. Animal models of alcohol and drug dependence. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35 Suppl 2, p. S140-146, 2013.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, n. 1-3, p. 3-33, 2003.

RAMOS, S. P.; WOITOWITZ, A. B. Da cervejinha com os amigos à dependência de álcool: uma síntese do que sabemos sobre esse percurso. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, São Paulo , v. 26, supl. 1, p. 18-22. 2004 .

ROGOZ, Z.; SKUZA, G. Anxiolytic-like effects of olanzapine, risperidone and fluoxetine in the elevated plus-maze test in rats. **Pharmacological Reports**, v. 63, n. 6, p. 1547-15452, 2011.

TABAKOFF, B.; HOFFMAN, P. L. The neurobiology of alcohol consumption and alcoholism: an integrative history. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 113, p. 20-37, 2013.

URBAN, N. B. SLIFSTEIN, M.; THOMPSON, J. L.; XU, X.; GIRGIS, R. R.; RAHEJA, S.; HANEY, M.; ABIR DARGHAM, A. Sex differences in striatal dopamine release in young adults after oral alcohol challenge: a positron emission tomography imaging study with [(1)(1)C]raclopride. **Biological Psychiatry**, v. 68, n. 8, p. 689-696, 2010.

UZBAY, I. T.; KAYAALP, S. O. A modified liquid diet of chronic ethanol administration: validation by ethanol withdrawal syndrome in rats. **Pharmacology Research**, v. 31, n. 1, p. 37-42, 1995.

WEZEMAN, F. H.; EMANUELE, M. A.; EMANUELE, N. V.; MOSKAL, S. F.; WOODS M.; SURI, M.; STEINER, J.; LAPAGLIA, N. Chronic alcohol consumption during male rat adolescence impairs skeletal development through effects on osteoblast gene expression, bone mineral density, and bone strength. **Alcohol Clinical and Experimental Research**, v. 23, n. 9, p. 1534-1542, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Alcohol epidemiology, monitoring, and information system. **WHO**, 2011. Disponível em: <[http://www.who.int/substance\\_abuse/activities/gad/en/](http://www.who.int/substance_abuse/activities/gad/en/)>



**ANEXO 1****Declaração da aprovação do trabalho pela Comissão de Ética no uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília**

**Universidade de Brasília**  
Instituto de Ciências Biológicas  
Comitê de Ética no Uso Animal

Brasília, 18 de fevereiro de 2014.



*DECLARAÇÃO*

Declaramos que o projeto intitulado **"EFEITOS DE FÁRMACOS QUE ATUAM NA NEUROTRANSMISSÃO SEROTONINÉRGICA SOBRE O COMPORTAMENTO DE ANIMAIS EM ABSTINÊNCIA DE ÁLCOOL SUBMETIDOS AO LABIRINTO EM T ELEVADO (LTE)."**, UnBDOC n.º 9516/2014, sob responsabilidade do Professor José Eduardo Pandóssio foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.



Prof. Dr. Fernando Pacheco Rodrigues  
Coordenador da CEUA

\*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

**ANEXO 2**

**Parecer de aprovação do trabalho pela Comissão de Ética no uso Animal (CEUA) da Universidade Católica de Brasília**

**16. RESOLUÇÃO DA COMISSÃO  
(Não preencher, uso exclusivo da CEUA)**

**PARECER DA CEUA/UCB**

<b>Comentários do relator, frente à Lei nº 11.794, de 08.10.2008</b>		
<p>O projeto tem por objetivo “avaliar a participação da neurotransmissão serotoninérgica, a partir de fármacos que interagem com esse substrato, sobre a abstinência de álcool em animais submetidos ao labirinto em T elevado”. A metodologia proposta é adequada para a investigação do mesmo e não incorre em quaisquer problemas de natureza ética, estando de acordo com as exigência da Lei 11.794. Deste modo, recomendo a aprovação do projeto.</p>		
<b>Aprovado</b>	<b>Com pendências</b>	<b>Reprovado</b>
Parecer: Aprovado		
Data: 25/03/2014		
Assinatura:		
Data da Reunião da CEUA: 26/03/2014		

A Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UCB, na sua reunião de \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**APROVOU**

**RETORNOU COM PENDÊNCIAS**

**REPROVOU**

os procedimentos éticos apresentados neste Protocolo N° \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Coordenador da Comissão