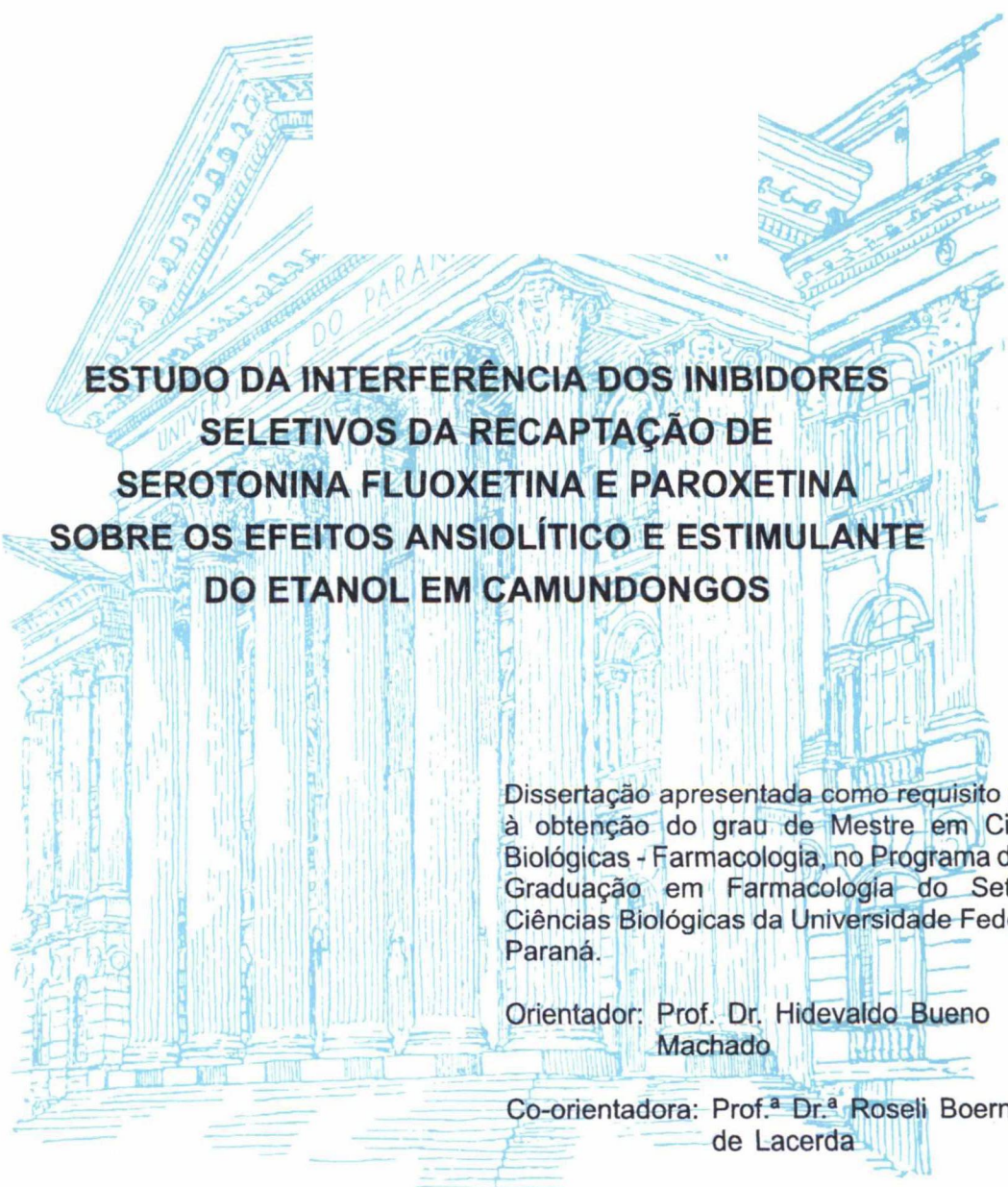


FRANCINE OLIVEIRA GOELDNER



**ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DOS INIBIDORES  
SELETIVOS DA RECAPTAÇÃO DE  
SEROTONINA FLUOXETINA E PAROXETINA  
SOBRE OS EFEITOS ANSIOLÍTICO E ESTIMULANTE  
DO ETANOL EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas - Farmacologia, no Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Hidevaldo Bueno Machado

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Roseli Boergen de Lacerda

CURITIBA

2004

FRANCINE OLIVEIRA GOELDNER

**ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DOS INIBIDORES  
SELETIVOS DA RECAPTAÇÃO DE  
SEROTONINA FLUOXETINA E PAROXETINA  
SOBRE OS EFEITOS ANSIOLÍTICO E ESTIMULANTE  
DO ETANOL EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas - Farmacologia, no Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Hidevaldo Bueno  
Machado

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Roseli Boerngen  
de Lacerda

CURITIBA

2004

**FRANCINE OLIVEIRA GOELDNER**

**ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DOS ISRS FLUOXETINA E  
PAROXETINA SOBRE OS EFEITOS ANSIOLÍTICO E  
ESTIMULANTE DO ETANOL EM CAMUNDONGOS**

Dissertação aprovada como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – Farmacologia no Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão Examinadora formada pelos professores:



Dr. Hidevaldo Bueno Machado (orientador)  
Departamento de Farmacologia  
Universidade Federal do Paraná - UFPR



Dr.ª Maria Lucia Oliveira de Souza Formigoni  
Departamento de Psicobiologia  
Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP



Dr. Roberto Andreatini  
Departamento de Farmacologia  
Universidade Federal do Paraná - UFPR

Curitiba, 17 de fevereiro de 2004.

Muitas pessoas participaram da realização deste trabalho. E eu já agradeço pessoalmente a cada uma delas. Elas sabem o quanto o meu projeto e a sua ajuda foram muito importantes para mim. Se eu for citar nomes posso esquecer de alguém, e jamais me perdoaria. Por isso, se você estiver lendo este texto agora e se lembrar que participou do meu projeto de alguma forma saiba que serei grata por toda minha vida. Se você não me ajudou na realização do projeto, mais irá ler meu trabalho também agradeço. Espero que ajude no seu trabalho, talvez como uma inspiração ou apenas para evitar que um erro seja cometido. Esse é o objetivo de todo o esforço que envolveu além de mim várias pessoas.

Obrigada  
Francine

*"Nasceste no lar que precisavas,  
Vestiste o corpo físico que merecias,  
Moras onde melhor Deus te proporcionou, de acordo com teu adiantamento.  
Possuis os recursos financeiros coerentes com as tuas necessidades, nem  
mais, nem menos, mas o justo para as tuas lutas terrenas.  
Teu ambiente de trabalho é o que elegeste espontaneamente para a tua  
realização.  
Teus parentes, amigos são as almas que atraístes, com tua própria  
afinidade.  
Portanto, teu destino está constantemente sobre teu controle.  
Tu escolhes, recolhes, eleges, atraís, buscas, expulsas, modificas tudo  
aquilo que te rodeia a existência.  
Teus pensamentos e vontades são a chave de teus atos e atitudes...  
São as fontes de atração e repulsão na tua jornada vivencia.  
Não reclames nem te faças de vítima.  
Antes de tudo, analisa e observa.  
A mudança está em tuas mãos.  
Reprograme tua meta, busque o bem e viverás melhor.  
**Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer  
um pode começar agora e fazer um novo fim "**.*

Chico Xavier

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>vi</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xi</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 ETANOL .....	2
1.1.1 Etanol e atividade locomotora.....	4
1.1.2 Etanol e ansiedade .....	6
1.1.3 Tratamento do alcoolismo.....	7
1.2 SEROTONINA.....	8
1.2.1 Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (ISRS).....	10
1.2.2 Serotonina e atividade locomotora.....	13
1.2.3 Serotonina e ansiedade .....	13
1.3 ETANOL E SEROTONINA .....	14
1.4 MODELOS ANIMAIS PARA AVALIAR ANSIEDADE E ATIVIDADE LOCOMOTORA.....	16
<b>2 HIPÓTESE.....</b>	<b>18</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
4.1 ANIMAIS .....	20
4.2 DROGAS .....	20
4.3 EQUIPAMENTOS .....	20
4.3.1 Labirinto em Cruz Elevado (LCE) .....	20
4.3.2 Campo Aberto (CA) .....	22
4.3.3 Caixa de Movimentação Espontânea (CME) .....	23
4.4 PROCEDIMENTOS .....	24
4.4.1 Curva dose-efeito de fluoxetina/paroxetina.....	24
4.4.2 Avaliação da co-administração de fluoxetina nos efeitos ansiolítico e estimulante do etanol; tratamentos agudo e crônico (14 e 28 dias).....	25

4.4.4 Avaliação da co-administração de paroxetina nos efeitos ansiolítico e estimulante do etanol; tratamentos agudo e crônico (14 e 28 dias)....	25
4.4.5 Avaliação da co-administração de fluoxetina nos efeitos ansiolítico e estimulante do etanol; tratamento crônico de 42 dias.....	26
4.4.6 Avaliação da co-administração de L-triptofano nos efeitos ansiolítico e estimulante do etanol; tratamentos agudo e crônico.....	27
4.4.7 Avaliação do efeito ansiolítico agudo da fluoxetina e paroxetina...	27
4.4.8 Avaliação do efeito da substituição do tratamento crônico com fluoxetina/paroxetina pelo etanol .....	28
4.4.9 Avaliação do efeito da substituição do tratamento crônico com etanol por fluoxetina/paroxetina.....	29
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
5.1 CURVA DOSE-EFEITO DE FLUOXETINA.....	31
5.2 CURVA DOSE-EFEITO DE PAROXETINA .....	33
5.3 AVALIAÇÃO DA CO-ADMINISTRAÇÃO DE FLUOXETINA/PAROXETINA SOBRE OS EFEITOS ANSIOLÍTICO E ESTIMULANTE DO ETANOL: TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO .....	36
5.4 AVALIAÇÃO DA CO-ADMINISTRAÇÃO DE FLUOXETINA SOBRE OS EFEITOS ANSIOLÍTICO E ESTIMULANTE DO ETANOL: TRATAMENTO CRÔNICO 42 DIAS.....	57
5.5 AVALIAÇÃO DA CO-ADMINISTRAÇÃO DE L-TRIPTOFANO SOBRE OS EFEITOS ANSIOLÍTICO E ESTIMULANTE DO ETANOL TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO.....	65
5.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANSIOLÍTICO AGUDO DA FLUOXETINA E PAROXETINA.....	69
5.7 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM FLUOXETINA/PAROXETINA PELO ETANOL E AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM ETANOL POR FLUOXETINA/PAROXETINA .....	77
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>84</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>96</b>
<b>8 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>97</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistemas de neurotransmissão afetados direta ou indiretamente pelo etanol. Locais de ação e efeitos associados.....	3
Figura 2. Principais áreas do cérebro implicadas nos processos de recompensa.....	4
Figura 3. Neurotransmissão serotoninérgica.....	8
Figura 4. Áreas de projeções das vias serotoninérgicas.....	9
Figura 5. Ação farmacológica dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina fluoxetina e paroxetina.....	12
Figura 6. Labirinto em Cruz Elevado.....	21
Figura 7. Campo Aberto.....	22
Figura 8. Caixa de Movimentação Espontânea.....	23
Figura 9. Efeitos da associação fluoxetina 10 mg/kg e etanol.....	37
Figura 10. Efeitos da associação fluoxetina 1 mg/kg e etanol.....	38
Figura 11. Efeitos da associação fluoxetina 0,5 mg/kg e etanol.....	39
Figura 12. Efeitos da associação paroxetina 5 mg/kg e etanol.....	41
Figura 13. Efeitos da associação paroxetina 1 mg/kg e etanol.....	42
Figura 14. Efeitos da associação fluoxetina e etanol sobre a ansiedade.....	44
Figura 15. Efeitos da associação paroxetina e etanol sobre a ansiedade.....	45
Figura 16. Efeitos da associação fluoxetina 10 mg/kg e etanol após 42 dias de tratamento nos testes do Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado.....	58
Figura 17. Efeitos da associação fluoxetina 1 mg/kg e etanol após 42 dias de tratamento no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado.....	60
Figura 18. Efeitos da associação fluoxetina 1 ou 10 mg/kg e etanol após 42 dias de tratamento no Labirinto em Cruz Elevado.....	63
Figura 19. Efeitos da associação L-triptofano e etanol no Campo Aberto.....	65
Figura 20. Efeitos da associação L-triptofano e etanol na Caixa de Movimentação Espontânea.....	66

Figura 21. Efeitos da associação L-triptofano e etanol no Labirinto em Cruz Elevado.....	67
Figura 22. Efeitos da associação L-triptofano e etanol .....	68
Figura 23. Efeitos ansiolíticos agudos da Fluoxetina no Campo Aberto.....	70
Figura 24. Efeitos ansiolíticos agudos da Fluoxetina no Labirinto em Cruz Elevado.....	72
Figura 25. Efeitos ansiolíticos agudos da Paroxetina no Campo Aberto .....	74
Figura 26. Efeitos ansiolíticos agudos da Paroxetina no Labirinto em Cruz Elevado.....	76
Figura 27. Efeitos da Substituição de Etanol por Fluoxetina 10 mg/kg ou de Fluoxetina 10 mg/kg por Etanol no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado. ....	79
Figura 28. Efeitos da Substituição de Etanol por Paroxetina 5 mg/kg ou de Paroxetina 5 mg/kg por Etanol no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado. ....	81
Figura 29. Efeitos da Substituição de Etanol por Fluoxetina 10 mg/kg ou Paroxetina 5 mg/kg ou de Fluoxetina 10 mg/kg ou Paroxetina 5 mg/kg por Etanol no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado. ....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeito de diferentes doses de fluoxetina no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado em camundongos .....	32
Tabela 2 - Efeito de diferentes doses de paroxetina no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado em camundongos .....	35
Tabela 3 - Teste de atividade locomotora no campo aberto para as doses de fluoxetina, paroxetina e suas associações com etanol.....	48
Tabela 4 - Teste de atividade locomotora na caixa de movimentação espontânea para as doses de fluoxetina e paroxetina e suas associações com etanol. ....	52
Tabela 5 - Número de entradas nos braços fechados e tempo de latência no centro do labirinto em cruz elevado com as diversas doses de fluoxetina, paroxetina e suas associações com etanol. ....	56

## LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	5-hidroxitriptamina, serotonina
5-HTTP	5-hidroxitriptofano
5-HIAA	ácido 5-hidroxiindolacético
ATV	área tegmental ventral
CA	campo aberto
CME	caixa de movimentação espontânea
E	etanol
F0,1	fluoxetina 0,1 mg/kg
F0,5	fluoxetina 0,5 mg/kg
F1	fluoxetina 1 mg/kg
F5	fluoxetina 5 mg/kg
F10	fluoxetina 10 mg/kg
F20	fluoxetina 20 mg/kg
ISRS	inibidor seletivo da recaptação de serotonina
LCE	labirinto em cruz elevado
Nac	núcleo acumbens
P1	paroxetina 1 mg/kg
P5	paroxetina 5 mg/kg
P10	paroxetina 10 mg/kg
P20	paroxetina 20 mg/kg
S	salina
SAP	<i>stretched attend posture</i> (espreitas)
T	L-triptofano

## RESUMO

A complexa etiologia da dependência ao etanol envolve alterações em vários sistemas de neurotransmissão. Os efeitos estimulantes e ansiolíticos do etanol têm sido relacionados às suas propriedades de recompensa, bem como ao desenvolvimento da dependência. A sensibilização ao efeito estimulante do etanol em animais pode estar associada ao aumento do efeito reforçador do etanol. O sistema serotoninérgico está relacionado com alguns transtornos psiquiátricos e também se sugere uma influência no abuso e dependência ao etanol. O primeiro objetivo deste estudo foi avaliar e comparar aguda e cronicamente as ações da fluoxetina e paroxetina, inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), sobre os efeitos estimulante e ansiolítico do etanol em camundongos Albinos suíços machos. O segundo objetivo foi avaliar se os efeitos das neuroadaptações causadas pelo tratamento crônico com fluoxetina e paroxetina são substituídos pelo etanol, assim como, se os efeitos das neuroadaptações causadas pelo etanol são substituídos pela fluoxetina e pela paroxetina. A associação dos ISRS ao etanol, cronicamente potencializou o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante do etanol, de forma dose dependente. As neuroadaptações provocadas pelos ISRS no experimento de substituição facilitaram o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante locomotor do etanol, mas as neuroadaptações provocadas pelo etanol não foram substituídas por fluoxetina ou paroxetina. A administração de 10 mg/kg de fluoxetina, concomitantemente ao etanol, antagonizou o efeito ansiolítico deste, mas o mesmo não aconteceu com paroxetina ou doses menores de fluoxetina. Por outro lado, os mecanismos ansiolíticos do etanol não sofreram interferência da ação aguda ou crônica da fluoxetina ou da paroxetina, no tratamento de substituição. O tratamento crônico somente com fluoxetina levou a um comportamento ansiogênico.

Palavras-chave: etanol, sensibilização, camundongo, fluoxetina, paroxetina, propriedades reforçadoras.

## ABSTRACT

The complex etiology of ethanol addiction involves alterations in many neurotransmission systems. The stimulant and anxiolytic effects of ethanol have been associated to its reward properties as well as to the development of addiction. The sensitization to the stimulant effect of ethanol in animals may be related to the increase of its reward effect. The serotonergic system is associated with some psychiatric disorders and it also seems to play a role in ethanol abuse and addiction. The aim of this study was to evaluate and compare the acute and chronic effects of the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI), fluoxetine and paroxetine, on the stimulant and anxiolytic effects of ethanol in male Swiss mice. In addition, it was evaluated whether the effects of the neuroadaptations induced by the chronic treatment with fluoxetine and paroxetine can be substituted by ethanol and the opposite, whether the effects of the neuroadaptation induced by the chronic treatment with ethanol can be replaced by fluoxetine or paroxetine. The association of SSRIs with ethanol in a chronic treatment potentiated the development of sensitization to the stimulant effect of ethanol in a dose-dependent relationship. The neuroadaptations promoted by the SSRIs facilitated the development of sensitization but the opposite was not true: the neuroadaptations induced by ethanol could not be substituted by fluoxetine or paroxetine. The co-administration of 10 mg/kg fluoxetine and ethanol antagonized the anxiolytic effect of ethanol but this effect was not observed when paroxetine was co-administered with ethanol or lower doses of fluoxetine were used. On the other hand, the acute or chronic treatment with fluoxetine or paroxetine did not interfere on the anxiolytic mechanisms of ethanol in the substitution experiment. The chronic treatment with fluoxetine only led to a anxiogenic behavior

Keywords: ethanol, sensitization, mouse, fluoxetine, paroxetine, reward properties.

## 1 INTRODUÇÃO

A dependência ao álcool, ou alcoolismo é um dos maiores problemas de saúde pública no mundo atingindo 10% da população mundial (VAILLANT, 2002). Esse transtorno envolve frequentemente não somente a busca pela droga, mas também uma ampla cadeia de alterações no comportamento que podem interferir com o funcionamento da vida em família, no trabalho e na sociedade. O uso crônico de etanol está associado em graus diferentes a várias doenças: déficits nutricionais, danos hepáticos, transtornos mentais, entre outros.

O tratamento envolve principalmente o tratamento comportamental e psicológico e/ou participação em programas de auto-ajuda. A intervenção farmacológica visa aliviar os sintomas de retirada, evitar recaída e tratar as co-morbidades. A combinação entre o tratamento psicológico e farmacológico parece ser a melhor estratégia disponível para a obtenção de resultados positivos no tratamento do alcoolismo.

Quais seriam as diferenças entre uma pessoa que consome etanol daquela que usa compulsivamente a droga e se torna um dependente? Muitos pesquisadores vêm tentando descobrir quais são essas diferenças. Os métodos utilizados incluem estudos em animais e em humanos para determinar as alterações genéticas, as ações do etanol no cérebro, os mecanismos biológicos e comportamentais que levam ao consumo crônico do etanol e os mecanismos dos danos cerebrais e das disfunções cognitivas.

## 1.1 ETANOL

O mecanismo de ação do etanol envolve múltiplos sítios subcelulares no sistema nervoso central, influenciando a função de muitos, se não todos os sistemas de neurotransmissores aos níveis molecular e celular (Figura 1). Por causa da reversibilidade da interação do etanol com substratos neurobiológicos, as alterações na função do cérebro associadas com a ingestão de etanol são resultado de modificações plásticas (adaptativas) que ocorrem no cérebro em resposta aos efeitos da droga. Essas mudanças podem ser de curta ou longa duração, mas reversíveis, ou elas podem ser permanentes e associadas com processos degenerativos em certas estruturas do cérebro (FADDA; ROSSETTI, 1998; IKEDA, KOBAYASHI et al., 2002).

O desenvolvimento de tolerância ou de sensibilização decorrentes da ingestão de doses repetidas de etanol pode refletir algumas alterações neuroadaptativas no cérebro que podem contribuir para o desenvolvimento de dependência (ROBINSON; BERRIDGE, 2003). Os indivíduos necessitam doses maiores da droga para atingir o efeito reforçador inicial (tolerância) ou as mesmas doses iniciais desencadeiam respostas maiores (sensibilização).

O desenvolvimento de dependência ao etanol e a síndrome da abstinência em seres humanos requerem o consumo contínuo de grandes quantidades de etanol por um longo período de tempo. Quando a ingestão da droga é abruptamente diminuída ou interrompida ocorre a síndrome de abstinência, que é caracterizada por tremores, alucinações, convulsões, insônia, agitação e confusão. Postula-se que a síndrome representa a hiperatividade dos mecanismos de ação neural que estão em desequilíbrio devido aos efeitos inibitórios do etanol (FINN; CRABBE, 1999).

Entretanto, o processo que determina a perda do controle sobre a quantidade e a duração do consumo de bebidas alcoólicas, que leva ao alcoolismo, permanece desconhecido, podendo estar relacionado com fatores ambientais e biológicos (HUNT; LANDS, 1992). O principal fator descrito no desencadeamento do abuso seria o efeito reforçador do etanol. Alguns dos efeitos da administração aguda de etanol são redução de ansiedade e um leve efeito eufórico. Esse último efeito estaria relacionado

com as propriedades reforçadoras positivas do etanol. O alívio de estados desagradáveis como dor, ansiedade e sintomas de abstinência produzido pelo etanol estaria relacionado ao seu papel reforçador negativo (BERKE; HYMAN, 2000; KOOB, 2000; 2003). Existem fortes evidências que o sistema dopaminérgico que se projeta da área tegmental ventral para o núcleo acumbens e córtex pré-frontal, envolvendo também vários outros componentes do sistema límbico, é o principal substrato para o reforço e recompensa de drogas de abuso, assim como do sistema de recompensa natural (Figura 2) (HYMAN; MALENKA, 2001; WIGHTMAN; ROBINSON, 2002)

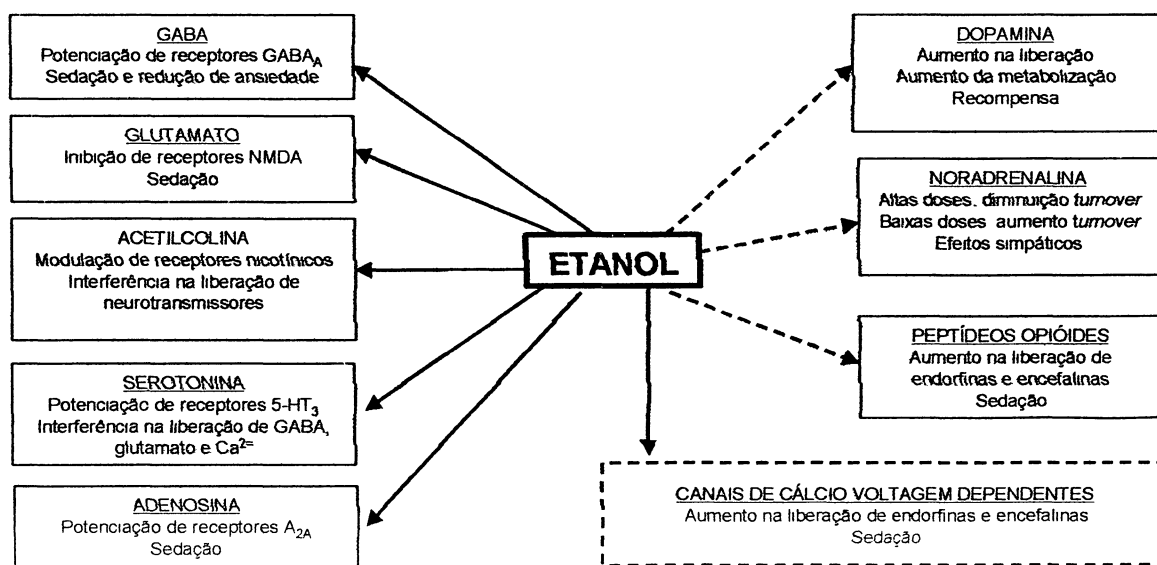


Figura 1. Sistemas de neurotransmissão afetados direta  $\rightarrow$  ou indiretamente  $\dashrightarrow$  pelo etanol. Locais de ação e efeitos associados.

As vias dopaminérgicas mesolímbico-corticais são bastante complexas. Os neurônios dopaminérgicos recebem projeções de vários outros sistemas de neurotransmissão que se originam de várias regiões cerebrais (KELLEY; BERRIDGE, 2002). Vários estudos têm demonstrado que os efeitos do etanol estão relacionados com a modulação das vias de

sinalização desses sistemas de neurotransmissão (DOHRMAN; REITER, 2003; SAMSON; CHAPPELL, 2003).

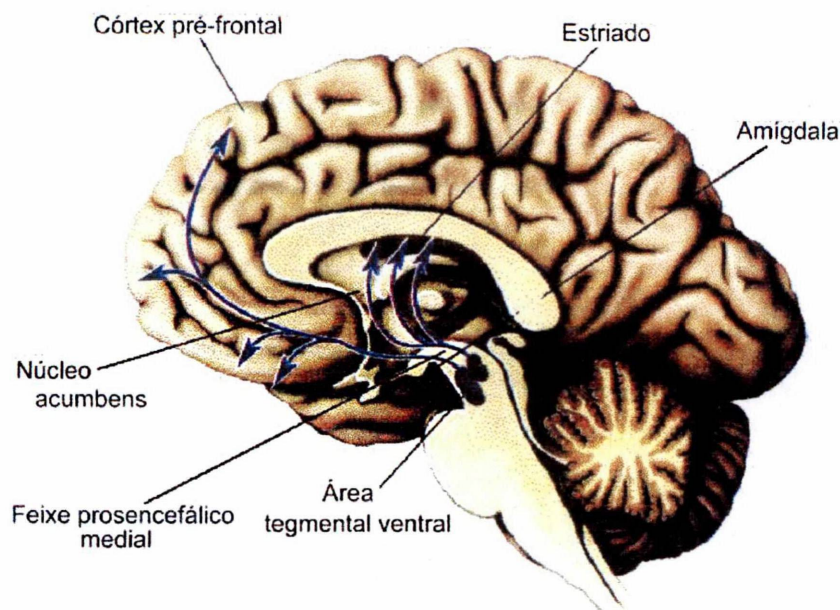


Figura 2. Principais áreas do cérebro implicadas nos processos de recompensa.

### 1.1.1 Etanol e atividade locomotora

Embora o etanol seja classificado como um sedativo-hipnótico e apresente efeitos depressores centrais, ele também causa estimulação em camundongos e em algumas cepas de ratos após baixas doses ou logo em seguida à administração de altas doses durante a ascensão da curva de absorção (POHORECKY, 1977; DUDEK; PHILLIPS et al., 1991). O tempo de duração da estimulação em animais assemelha-se à euforia observada em humanos após a ingestão de etanol (LUKAS; MENDELSON, 1988). Assim, a atividade estimulatória do etanol em roedores tem sido sugerida como um modelo experimental dos efeitos euforizantes e reforçadores positivos para os humanos.

A atividade locomotora em roedores tem sido a medida mais freqüentemente usada para avaliar a sensibilização comportamental

(MASUR; BOERNGEN, 1980). Estudos têm demonstrado que o álcool estimula a atividade locomotora em várias linhagens selecionadas de camundongos (CRABBE, JOHNSON et al., 1982; DUDEK, MAIO et al., 1986; PHILLIPS; DICKINSON et al., 1994). Estudos farmacológicos sugerem que os mecanismos neurais envolvidos nos seus efeitos estimulantes agudos diferem daqueles crônicos envolvidos na sensibilização (RISINGER; DICKINSON et al., 1992).

Estudos mostram que a administração repetida de drogas de abuso pode produzir sensibilização, isto é, um aumento no efeito da droga. A sensibilização é representada pelo aumento significativo da resposta comportamental dos animais ao tratamento com a droga, que pode ser medida pelo aumento da sua atividade psicomotora (MASUR; BOERNGEN, 1980; ROBINSON; BERRIDGE, 2000), mas existem diferenças entre linhagens e espécies (MASUR; OLIVEIRA DE SOUZA et al., 1986)

A sensibilização provocada pelo etanol está associada a neuroadaptações que envolvem direta ou indiretamente as vias dopaminérgicas mesolímbicas e nigroestriatais. O sistema mesolímbico tem projeções predominantemente para o núcleo acumbens e o sistema nigroestriatal para o caudado. A partir da região mesocortical partem projeções para o córtex pré-frontal. Esses sistemas são agrupados formando o sistema dopaminérgico mesotelencefálico, que mostra padrões semelhantes entre primatas e roedores. Essa base neuroquímica contribui para os efeitos de estimulação psicomotora e tem papel importante no desenvolvimento do comportamento compulsivo de procura pela droga ou *craving* e possivelmente até pela recaída, provavelmente por representar um reforço positivo para os alcoolistas (EVENDEN; RYAN, 1988; BERKE; HYMAN, 2000).

### 1.1.2 Etanol e ansiedade

Ansiedade é uma emoção normal. A patologia ansiedade é um transtorno psiquiátrico caracterizado por um sentimento de apreensão, incerteza ou tensão pela antecipação de um fato imaginário ou desproporcional. As manifestações físicas observadas são taquicardia, sudorese, distúrbios respiratórios, tremor e até paralisia. A ansiedade é sentida como uma sensação de desconforto (SANDFORD; ARGYROPOULOS et al., 2000). Os transtornos de ansiedade mais comuns são pânico, obsessivo-compulsivo, do estresse pós-traumático, da ansiedade generalizada e a fobia social (ZOHAR; WESTENBERG, 2000).

A relação entre ansiedade e o uso de etanol é complexa. Acredita-se que algumas pessoas consomem etanol para alívio da ansiedade ou para reduzir o estresse (BOWERS; WEHNER, 2001). Na retirada do etanol um sintoma comum é a ansiedade. E essa ansiedade decorrente da retirada é um fator importante para a recaída do alcoolista (PANDEY, ZHANG et al., 1999). Foi observado um maior grau de ansiedade em alcoolistas em recaída do que naqueles que não voltaram a consumir a droga (DRIESSEN, MEIER et al., 2001).

Os benzodiazepínicos com ação específica em receptores benzodiazepínicos acoplados ao receptor GABA<sub>A</sub> têm sido as principais drogas para o tratamento da ansiedade. Acredita-se que um dos prováveis mecanismos ansiolíticos do etanol também seja através da ação em receptores GABA<sub>A</sub>. Agudamente o etanol aumenta a ação do GABA nos receptores GABA<sub>A</sub>. Cronicamente, observa-se redução no funcionamento desses receptores (SAMSON; HARRIS, 1992; SANDFORD; ARGYROPOULOS et al., 2000).

### 1.1.3 Tratamento do alcoolismo

Os avanços da neurobiologia permitiram o desenvolvimento de medicamentos para o tratamento do alcoolismo, que atuam modificando a atividade dos neurotransmissores envolvidos no abuso da droga (JOHNSON; AIT-DAOUD, 1999).

Os agentes farmacológicos para o tratamento do alcoolismo são uma parte importante do plano de tratamento para dependentes crônicos de álcool, que incluem substancialmente re-educação, terapia psicológica e suporte social. Além das drogas que são frequentemente prescritas para controlar os sintomas de abstinência, como os benzodiazepínicos, muitos fármacos foram desenvolvidos durante a última década para combater os efeitos induzidos pelo abuso crônico do etanol, para a síndrome de abstinência, para diminuir o desejo pelo consumo de álcool (*craving*) e a recaída, bem como drogas para a diminuição da ingestão de álcool (PETRAKIS; KRYSTAL, 1997; SWIFT, 1999).

Existem vários estudos mostrando co-morbidade entre dependência e abuso de etanol e transtornos mentais, principalmente ansiedade e depressão. Nesses casos, a farmacoterapia de escolha está baseada na co-morbidade presente (DRIESSEN, MEIER et al., 2001; BURNS; TEESSON, 2002)

Nos últimos anos duas drogas foram aprovadas pelo *Food and Drug Administration* (FDA) com o objetivo de reduzir o consumo de etanol acamprosato e naltrexone. Acamprosato exerce seus efeitos principalmente por interagir com receptores glutamatérgicos NMDA. Naltrexone é um antagonista de receptores opióides. O uso dessas drogas em estudos pré-clínicos foi promissor, mas a comprovação de sua eficácia clínica ainda necessita de estudos mais consistentes (TOMKINS; SELLERS, 2001)

Recentemente, a combinação de agentes terapêuticos para o tratamento do alcoolismo tem despertado interesse clínico e científico. Isto se deve à hipótese de que múltiplas vias neuroquímicas podem estar alteradas e que a combinação de medicamentos efetivos, atuando em diferentes neurotransmissores, pode produzir um sinergismo ou pelo menos uma resposta aumentada (SPANAGEL; ZIEGLGANSBERGER, 1997,

JOHNSON; AIT-DAOUD, 2000).

## 1.2 SEROTONINA

A serotonina, também conhecida como 5-hidroxitriptamina (5-HT), é uma monoamina derivada do aminoácido L-triptofano que existe no cérebro, tecido intestinal e plaquetas. O passo inicial na síntese de serotonina é a conversão de L-triptofano em 5-hidroxitriptofano, uma reação catalisada pela enzima triptofano hidroxilase. 5-hidroxitriptofano sofre uma descarboxilação catalisada por uma descarboxilase de aminoácido aromático e forma serotonina. A serotonina é metabolizada por desaminação oxidativa pela ação de uma monoamina oxidase. Na sinapse neuronal, a serotonina liberada pode ser recaptada pela ação de uma bomba ou transportador de serotonina (Figura 3) (FADDA, 2000; KEMA; DE VRIES et al., 2000).

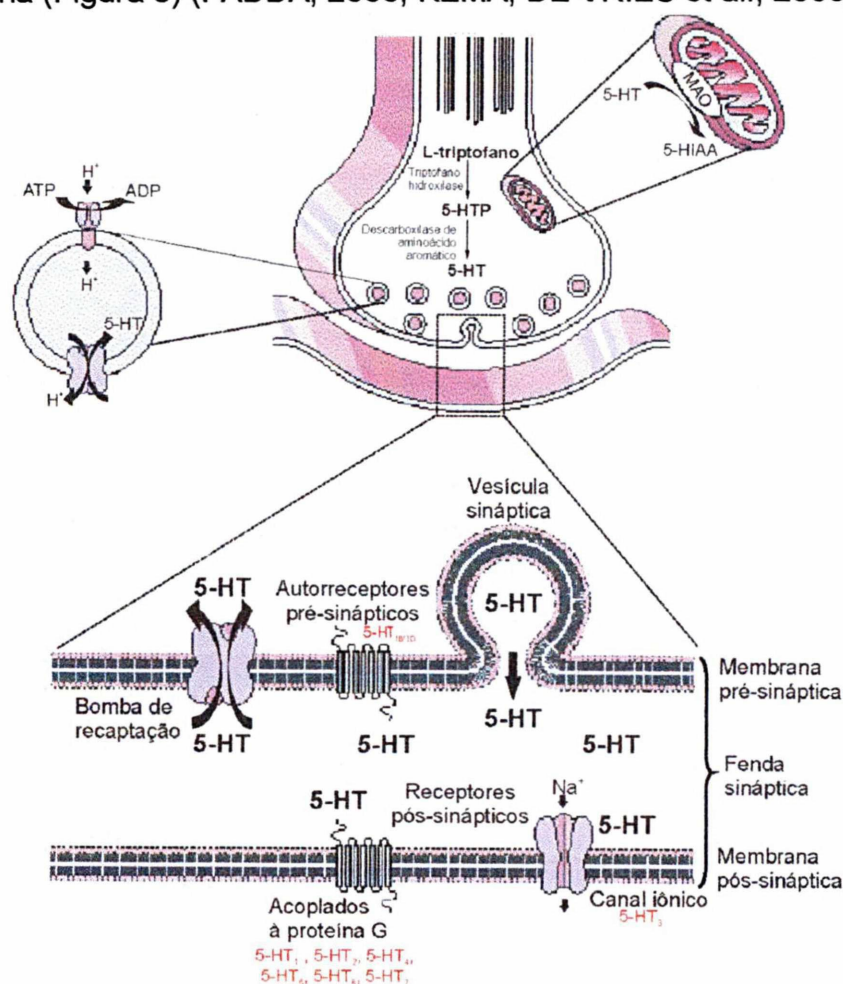


Figura 3. Neurotransmissão serotoninérgica.

Os corpos dos neurônios serotoninérgicos estão localizados no tronco cerebral em uma área conhecida como núcleos da rafe. Dos núcleos da rafe os neurônios serotoninérgicos têm projeções ascendentes principalmente para o córtex, estriado, amígdala, tálamo, hipotálamo, hipocampo, substância negra, e projeções descendentes para o tronco e espinha dorsal (Figura 4) (ROBERTS; PRICE et al., 2001).

A serotonina está envolvida em uma variedade de processos fisiológicos. Na periferia, funciona principalmente como um potente vasoconstritor e no sistema nervoso central apresenta-se como parte de um sistema de neurotransmissão complexo com função modulatória, principalmente de processos de aprendizagem e memória, atenção, cognição e emoção (EISON; EISON, 1994; BUHOT, 1997).

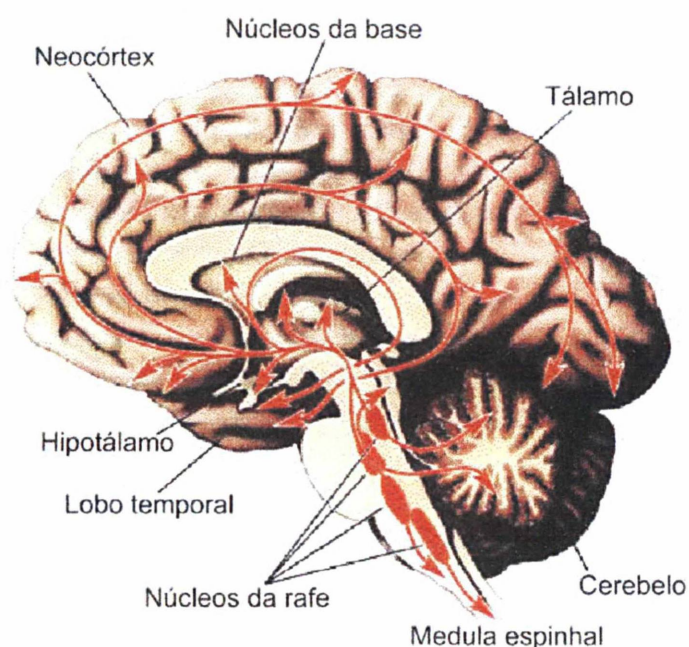


Figura 4. Áreas de projeções das vias serotoninérgicas.

Anormalidades no sistema de neurotransmissão serotoninérgico estão relacionadas a diversas patologias: depressão, esquizofrenia, transtornos de ansiedade generalizada, obsessivo compulsivo, pânico, estresse pós-traumático; transtornos cognitivos como o Alzheimer, agressividade,

transtorno pré-menstrual, enxaqueca, dor, síndrome do intestino irritável, transtornos alimentares como obesidade e anorexia, disfunção sexual, abuso de drogas, entre outros (JONES; BLACKBURN, 2002).

As ações múltiplas da serotonina se devem à localização e variedade de receptores serotoninérgicos, que são altamente heterogêneos. Atualmente existem 14 subtipos de receptores serotoninérgicos identificados que foram reagrupados em sete diferentes famílias. A família 5-HT<sub>1</sub> apresenta cinco representantes A, B, D, E e F com localização pré- e pós-sináptica. Sendo que 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> apresentam alta homologia genômica. Além de sua localização na pós-sinapse, 5-HT<sub>1A</sub> são autorreceptores somatodendríticos e controlam o disparo neuronal da rafe dorsal; 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>1D</sub> têm localização na pré-sinapse atuam no controle local da liberação de serotonina (BUHOT, 1997; PINEYRO; BLIER, 1999; STAMFORD, DAVIDSON et al., 2000). A família 5-HT<sub>2</sub> tem três representantes A, B e C, com localização exclusiva na pós-sinapse (MURPHY, WICHEMS et al., 1999). O receptor 5-HT<sub>3</sub> é o único representante formando um canal iônico. Os receptores metabotrópicos 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5A</sub> e 5-HT<sub>5B</sub>, 5-HT<sub>6</sub> e 5-HT<sub>7</sub>, são todos pós-sinápticos, com localização variada (MENESES, 1999).

Alguma interferência na bomba de recaptção de serotonina pode aumentar ou diminuir o tempo de exposição das células à serotonina, e levar à interrupção do perfeito sincronismo da transmissão nervosa no cérebro. Acredita-se que esta interrupção possa estar envolvida em múltiplos transtornos psiquiátricos. Um exemplo proeminente de transtorno que parece estar envolvido com a função reduzida da serotonina no cérebro é a depressão. Algumas drogas antidepressivas, como os inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), têm como efeito agudo a inibição da captação de serotonina com conseqüente elevação da concentração do neurotransmissor no cérebro (BLAKELY; BAUMAN, 2000).

### **1.2.1 Inibidores Seletivos da Recaptção de Serotonina (ISRS)**

Os inibidores seletivos da recaptção de serotonina, como fluoxetina e paroxetina, são amplamente usados no tratamento da depressão e

também são eficazes em alguns transtornos de ansiedade, como pânico, transtorno obsessivo compulsivo e fobia social (DURAND, BERTON et al., 1999)

Especificamente, fluoxetina também é utilizada no tratamento da síndrome pré-menstrual, bulimia/anorexia nervosa (MENDLEWICZ, 1999; SCHATZBERG, 2000) e no tratamento da agressividade (COCCARO; KAVOUSSI et al., 1997). Este fármaco tem mostrado ser tratamento de primeira escolha para depressão associada com ansiedade (PERETTI; JUDGE et al., 2000).

A ação farmacológica direta dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina ocorre através do bloqueio dos sítios de recaptação da serotonina, resultando no aumento na concentração de serotonina na fenda sináptica (Figura 5). Contudo, é observado um atraso de aproximadamente 2 a 3 semanas na melhora clínica dos pacientes tratados com os inibidores seletivos da recaptação de serotonina, além de outros. Isto sugere que os efeitos dessas drogas são mediados por mudanças adaptativas no sistema serotoninérgico. A mudança adaptativa responsável por este atraso no efeito seria a de que o aumento na concentração de serotonina provocaria ativação dos autorreceptores inibitórios, principalmente do receptor 5-HT<sub>1A</sub>. O uso crônico de fluoxetina ou paroxetina provocaria a dessensibilização desses autorreceptores e conseqüentemente a melhora clínica (LI, BATTAGLIA et al., 1997; GOBERT, RIVET et al., 1999; NAUDON, EL YACOUBI et al., 2002)

Em ensaios clínicos comparando vários antidepressivos, paroxetina parece mostrar maior rapidez na melhora dos quadros de ansiedade que fluoxetina, em relação aos outros inibidores testados (KENT; COPLAN et al., 1998; CHOUINARD, SAXENA et al., 1999). Por isso, paroxetina é usada no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada (BOURIN; CHUE et al., 2001)

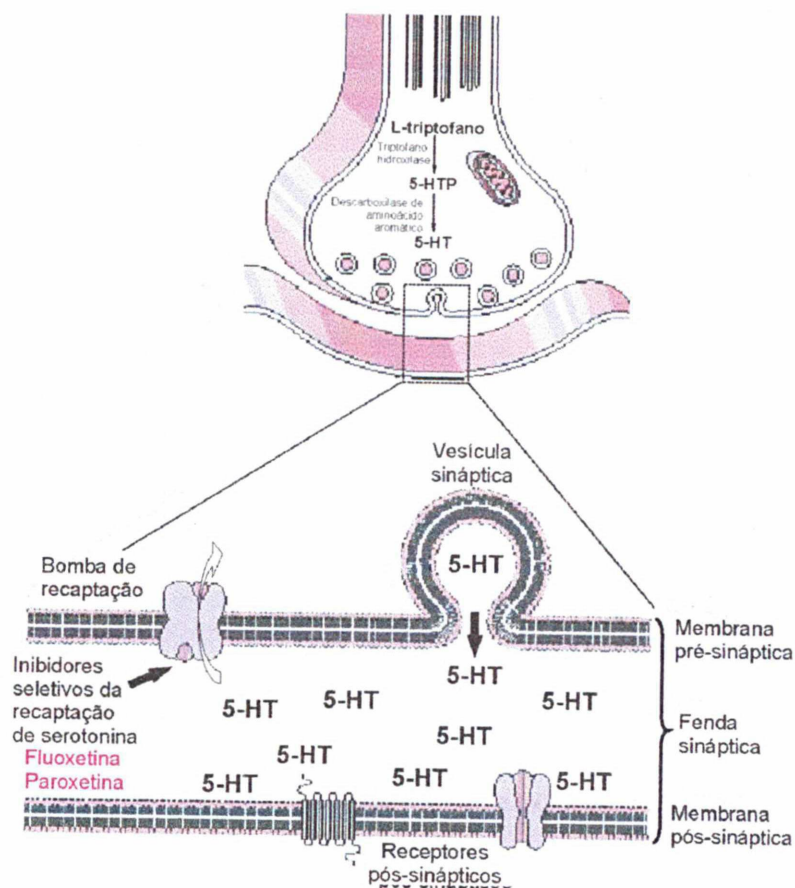


Figura 5. Ação farmacológica dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina fluoxetina e paroxetina.

O uso de ISRS no tratamento do alcoolismo apresenta resultados pouco consistentes. Alguns experimentos clínicos com ISRS (fluoxetina, citalopram ou zimelidina) mostraram redução no consumo de etanol somente nas quatro primeiras semanas de tratamento. Em tratamentos prolongados não foram observadas diferenças significativas entre os pacientes que receberam ISRS daqueles que receberam placebo. O aumento na concentração de serotonina provocado pela fluoxetina não foi eficaz no tratamento de alcoolistas com déficits serotoninérgicos (JOHNSON; AIT-DAOUD, 2000).

### 1.2.2 Serotonina e atividade locomotora

A atividade serotoninérgica nas regiões pontina-mesencefálica e medula está relacionada com controle da atividade motora tônica. Existem evidências que indicam que a relação entre serotonina e atividade motora estaria relacionada com a modulação do sistema nervoso simpático e sistema neuroendócrino (JACOBS; FORNAL, 1999). Os mecanismos serotoninérgicos no controle do comportamento motor ficam muito evidentes nos estados depressivos, pois o retardo psicomotor é um dos sintomas cardinais dessa patologia (BROCCO, DEKEYNE et al., 2002).

### 1.2.3 Serotonina e ansiedade

Estudos clínicos têm demonstrado que o excesso de serotonina aumenta a ansiedade, enquanto que o antagonismo ou redução da atividade serotoninérgica é ansiolítico (HANDLEY, MCBLANE et al., 1993; CLEMENT, KIA et al., 1996; LIN; PARSONS, 2002). A descoberta de que buspirona, um agonista parcial do receptor 5-HT<sub>1A</sub>, possui propriedades ansiolíticas e a eficácia dos inibidores de recaptção de serotonina no tratamento dos transtornos obsessivo-compulsivo e do pânico e no tratamento da fobia social geraram maior interesse na serotonina como um neurotransmissor envolvido na neurobiologia da ansiedade (HANDLEY, MCBLANE et al., 1993; TOTH, 2003).

Usando agonistas e antagonistas pode-se avaliar que os principais receptores serotoninérgicos envolvidos na ansiedade são: (1) os receptores 5-HT<sub>1A</sub> tanto na pré- quanto na pós-sinapse; (2) os autorreceptores 5-HT<sub>1B</sub> localizados na substância negra, globo pálido e estriado; (3) os receptores pós-sinápticos 5-HT<sub>2A</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> localizados no córtex, hipocampo, estriado e plexo coróide; e (4) os receptores 5-HT<sub>3</sub> localizados em áreas límbicas (CLEMENT, KIA et al., 1996).

O aumento da atividade central serotoninérgica causada pelos inibidores da recaptção de serotonina em curto prazo não tem ação

terapêutica ansiolítica. Essa ação ocorre somente em longo prazo, presumivelmente como um resultado de sua habilidade em provocar diminuição da sensibilidade, isto é, *downregulation* dos autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>1B</sub> após administração crônica. O aumento inicial da atividade serotoninérgica causada pelos inibidores de recaptção de serotonina em pacientes tratados pelo transtorno do pânico, por exemplo, pode inicialmente piorar os sintomas de ansiedade. Após o tratamento crônico ocorrem adaptações nos receptores e a diminuição nos sintomas de ansiedade (NUTT, FORSHALL et al., 1999; ZOHAR; WESTENBERG, 2000).

### 1.3 ETANOL E SEROTONINA

A serotonina modula várias funções no sistema nervoso central e algumas evidências sugerem que este sistema tem participação importante no consumo de álcool. Por exemplo, o aumento dos níveis de serotonina nas sinapses ou o bloqueio de certos subtipos de receptores pode diminuir o consumo de álcool (LEMARQUAND; PIHL et al., 1994). Outros estudos sugerem que serotonina ajuda a regular o reforço, porque distúrbios no sistema serotoninérgico podem seletivamente afetar o consumo de substâncias recompensadoras como o álcool, outras drogas e substâncias de sabor doce (SELLERS; HIGGINS et al., 1992).

Alguns estudos encontraram anormalidades na atividade serotoninérgica associadas com o uso de álcool, alcoolismo e impulsividade. Estas anormalidades caracterizam-se pela diminuição dos níveis de serotonina e de seus metabólitos nos dependentes de álcool do tipo II, um grupo caracterizado pelo início precoce da ingestão do álcool, alta impulsividade e um significativo deterioramento social relacionado ao alcoolismo (PETRAKIS; KRYSTAL, 1997).

A exata natureza da relação entre serotonina e alcoolismo é desconhecida. Uma teoria sugere que dependentes de álcool são naturalmente deficientes de serotonina no cérebro. De acordo com este ponto de vista, a procura pelo álcool pode representar um esforço para aumentar os níveis de serotonina no cérebro. Outras teorias sugerem que a

serotonina influencia diretamente os efeitos de reforço do álcool e outras drogas, ou exerce uma influência indireta através da ação sobre o neurotransmissor dopamina. Uma terceira sugestão é a de que baixos níveis de serotonina levam a um comportamento impulsivo, incluindo uma inabilidade para modular a ingestão de álcool. Anormalidades serotoninérgicas também podem contribuir para a ansiedade, levando potencialmente a “uma automedicação” dos sintomas de ansiedade com o consumo de álcool (PETRAKIS; KRYSTAL, 1997). Também pode estar relacionada com a função da serotonina na regulação da dor, através da sua participação na liberação de endorfinas. Endogenamente a serotonina parece facilitar a liberação de endorfinas em regiões do cérebro, como o núcleo arqueado e o núcleo acumbens. Esta indicação da interação entre os sistemas serotoninérgico e endorfinico, envolvendo os circuitos de recompensa no cérebro, pode interferir nos comportamentos alimentares, sexuais, sociais e de adição, como o alcoolismo (DALAYEUN; NORES et al., 1993; ZANGEN; NAKASH et al., 1999).

Existem amplas evidências do envolvimento da serotonina com o comportamento de procura pelo etanol. A ingestão de etanol aumenta a liberação de serotonina no núcleo acumbens. Tratamentos farmacológicos que aumentam a disponibilidade de serotonina ou que ativam diretamente a transmissão serotoninérgica, reprimem a ingestão voluntária da droga em animais e pode reduzir o consumo de álcool em humanos (GULLEY, MCNAMARA et al., 1995; WILSON; NEILL et al., 1998).

Mudanças neuroadaptativas semelhantes àsquelas observadas com dopamina têm sido observadas também no sistema serotoninérgico após a exposição crônica ao etanol. O etanol agudamente ativa a neurotransmissão serotoninérgica. A abstinência ao etanol após a indução da dependência causa redução no metabolismo e no conteúdo de serotonina em todo o cérebro e nas estruturas límbicas e estriatais. Outros dados demonstram que enquanto o etanol agudo aumenta a liberação de serotonina no núcleo acumbens, a abstinência do etanol em ratos dependentes está associada com uma supressão progressiva da sua liberação nessa estrutura. As deficiências serotoninérgicas durante a abstinência são consistentes com estudos clínicos que têm revelado déficits na síntese de serotonina, na sua

taxa de renovação ou na função do receptor em dependentes de álcool, sugerindo que prejuízos nas funções da serotonina sejam um importante fator neuroquímico no abuso e dependência ao álcool (HIGLEY; BENNETT, 1999; THIELEN; MORZORATI et al , 2001)

Reduzida disponibilidade de transportadores de serotonina nos núcleos da rafe tem sido encontrada em indivíduos alcoolistas, e este fato tem sido associado com depressão e consumo excessivo de etanol (HEINZ, JONES et al , 2000)

#### 1.4 MODELOS ANIMAIS PARA AVALIAR ANSIEDADE E ATIVIDADE LOCOMOTORA

Modelos animais são usados na pesquisa pré-clínica como ferramenta para avaliar efeitos de novos agentes terapêuticos e na pesquisa dos mecanismos biológicos envolvidos no mecanismo de ação das drogas (RODGERS, CAO et al., 1997).

Labirinto em cruz elevado, campo aberto e caixa de movimentação espontânea que são os três testes comportamentais utilizados no presente trabalho, possibilitam detectar componentes de motricidade e emocionalidade, através da observação da atividade motora e exploratória dos camundongos (BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000)

Modelos animais de ansiedade úteis devem reproduzir características comportamentais e patológicas da síndrome de ansiedade; permitir investigação de mecanismos neurobiológicos que não são facilmente estudados no homem; permitir avaliação confiável de agentes ansiolíticos, assim como identificar efeitos ansiogênicos das drogas (ANDREATINI, BOERNGEN-LACERDA et al., 2001)

O estudo da atividade exploratória como medida de ansiedade necessita de considerações importantes. Primeiro, o comportamento de locomoção é um componente da atividade exploratória, e segundo, outros fatores não relacionados com ansiedade também podem causar mudanças na exploração. O comportamento de animais expostos a um ambiente novo é resultante de uma competição entre uma tendência exploratória (motivada

pela curiosidade) e outra de fuga (motivada pelo medo). Isto pode ser considerado como uma forma de conflito de aproximação-esquiva. Muitos fatores podem alterar a importância de cada uma destas motivações, como a complexidade da situação, o grau de novidade e o estado interno do animal (FILE; DAY, 1972; COREY; WALTON et al., 1978; LISTER, 1990).

O campo aberto é um teste de emocionalidade, que expõe o animal a um ambiente novo e mede a sua atividade exploratória. Esse modelo animal mede tanto o comportamento tipo ansiedade quanto sedação e atividade locomotora. O procedimento consiste em sujeitar o animal a um ambiente desconhecido onde sua fuga é impedida pelas paredes elevadas que circundam a arena. Esse ambiente é altamente iluminado na versão utilizada neste trabalho. Roedores nesta situação preferem espontaneamente a periferia a uma atividade no centro do aparato. Drogas que aumentam a exploração da área central e a atividade vertical e também atividade locomotora total são interpretadas como ansiolíticas. Drogas com efeitos contrários são consideradas como ansiogênicas (TURRI, DATTA et al., 2001; PRUT; BELZUNG, 2003).

O labirinto em cruz elevado é um modelo que está baseado no medo natural de lugares abertos e elevados dos roedores (BORSINI; PODHORNA et al., 2002). O tratamento com ansiolíticos, como benzodiazepínicos, aumenta a exploração do espaço aberto. Enquanto que drogas ansiogênicas diminuem o tempo de exploração do espaço aberto em relação ao tempo total que o animal permanece no teste. E o número total de entradas nos espaços abertos e fechados refletem uma medida de atividade locomotora no labirinto em cruz elevado (MECHIEL KORTE; DE BOER, 2003).

A observação de outros comportamentos, como por exemplo exploração vertical (*rearing*), auto-limpeza (*grooming*) e espreitas (*stretched attend posture –SAP*), fornecem outros dados sobre o comportamento dos animais nos testes (FLINT, 2003).

O propósito do presente trabalho foi investigar a interferência do sistema serotoninérgico sobre os efeitos reforçadores do etanol. Os experimentos comportamentais realizados avaliaram se fluoxetina ou paroxetina provocaram alterações na ativação locomotora e exploratória induzidas pelo tratamento agudo e crônico com etanol em camundongos.

## 2 HIPÓTESE

Sabe-se que os ISRS têm sido empregados no tratamento de transtornos do humor e de ansiedade e que têm sido propostos para o tratamento de alcoolistas, pelo menos naqueles que apresentam esses transtornos co-mórbidos ao alcoolismo ou que se instalam após a retirada do álcool. Os ISRS só apresentam seus efeitos terapêuticos após o uso por pelo menos 30 dias, sugerindo que existe a necessidade de mecanismos neuroadaptativos para a resposta terapêutica. O uso crônico de álcool também causa alterações neuroadaptativas em diversos sistemas de neurotransmissores, inclusive no serotoninérgico, que estão relacionadas com o desenvolvimento da dependência. Duas propriedades farmacológicas do álcool, seu efeito estimulante e ansiolítico, parecem contribuir para o desenvolvimento de dependência e também sofrem alterações adaptativas após o uso crônico de álcool.

Assim, torna-se relevante entender como os ISRS poderiam interferir nesses efeitos do etanol, tanto aguda como cronicamente. Se esses ISRS causassem alguma interferência na manifestação desses efeitos do etanol, que tipo de efeito seria observado quando se substituísse o tratamento crônico com etanol por um ISRS? E o contrário? As adaptações provocadas pelo tratamento crônico com etanol ou ISRS teriam algo em comum? E se tivessem mecanismos neuroadaptativos comuns, seriam manifestados para quais desses efeitos do etanol?

### **3 OBJETIVOS**

1. Avaliar e comparar as ações da fluoxetina e paroxetina aguda e cronicamente sobre os efeitos estimulante e ansiolítico do etanol em camundongos
2. Avaliar se os efeitos das neuroadaptações causadas pelo tratamento crônico com fluoxetina e paroxetina são substituídos pelo etanol.
3. Avaliar se os efeitos das neuroadaptações causadas pelo etanol são substituídos pela fluoxetina e pela paroxetina.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ANIMAIS

Foram utilizados camundongos Albinos suíços adultos machos de 20 a 30 g, com 45 dias de idade ao início do experimento, procedentes do biotério da UFPR e experimentalmente ingênuos. Os animais foram alojados em grupos de 20 animais em gaiolas-viveiro de plástico (50×30×15 cm) com tampas de metal galvanizado. Os animais foram mantidos em uma sala com temperatura ambiente de  $22 \pm 2$  °C, sob ciclo claro/escuro de 12 h e em condições *ad libitum* de alimento e água.

### 4.2 DROGAS

Etanol absoluto (Merck) diluído a 10% P/V em solução salina 0,9%. Fluoxetina (Eli Lilly), Paroxetina (Eurofarma), L-triptofano (Merck), Anfetamina (Sigma) diluídos em água destilada. Diazepam injetável (Roche). Todas as drogas foram administradas por via intraperitoneal.

### 4.3 EQUIPAMENTOS

#### 4.3.1 Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

Construído em madeira e pintado com tinta óleo cor cinza. O aparelho, elevado do piso 50 cm, consiste em dois braços abertos e opostos, medindo 50×10 cm cada, e cruzados perpendicularmente por outros dois braços do mesmo tamanho, porém fechados nas suas três faces externas com paredes de 40 cm de altura (Figura 6). O centro da cruz corresponde a uma área quadrada de 10 cm<sup>2</sup> delimitada pelos quatro braços. A iluminação é feita por uma lâmpada vermelha de 40 watts, colocada a 120 cm acima do

labirinto. No momento do teste, cada camundongo foi colocado na área central do aparelho, e observado durante 3 min. Foram registrados o número de entradas e o tempo de permanência em cada braço. Considerou-se uma entrada quando há a invasão de um dos braços pelas quatro patas do camundongo. As medidas utilizadas para a análise do comportamento de medo foram: número de entradas nos braços abertos (EA), número de entradas nos braços fechados (EF), total de entradas ( $TE=EA+EF$ ), porcentagem de entradas nos braços abertos ( $\%EA=EA \times 100/TE$ ), tempo de permanência nos braços abertos (TA), tempo de permanência nos braços fechados (TF); porcentagem de tempo nos braços abertos ( $\%TA=TA \times 100/(TA+TF)$ ); tempo de permanência na área central ( $TM=180-(TA+TF)$ ). No experimento para avaliar o efeito ansiolítico agudo da fluoxetina e da paroxetina também foram registrados os seguintes parâmetros: número de vezes que o animal estica a cabeça e os ombros e volta para a posição inicial ou “espreitas” ou SAP (*stretched attend posture*), número de vezes que o animal nos braços abertos explora em direção ao assoalho da sala (*head dipping*) e o número de vezes que o animal se apóia nas patas traseiras assumindo posição vertical (elevação ou *rearing*).

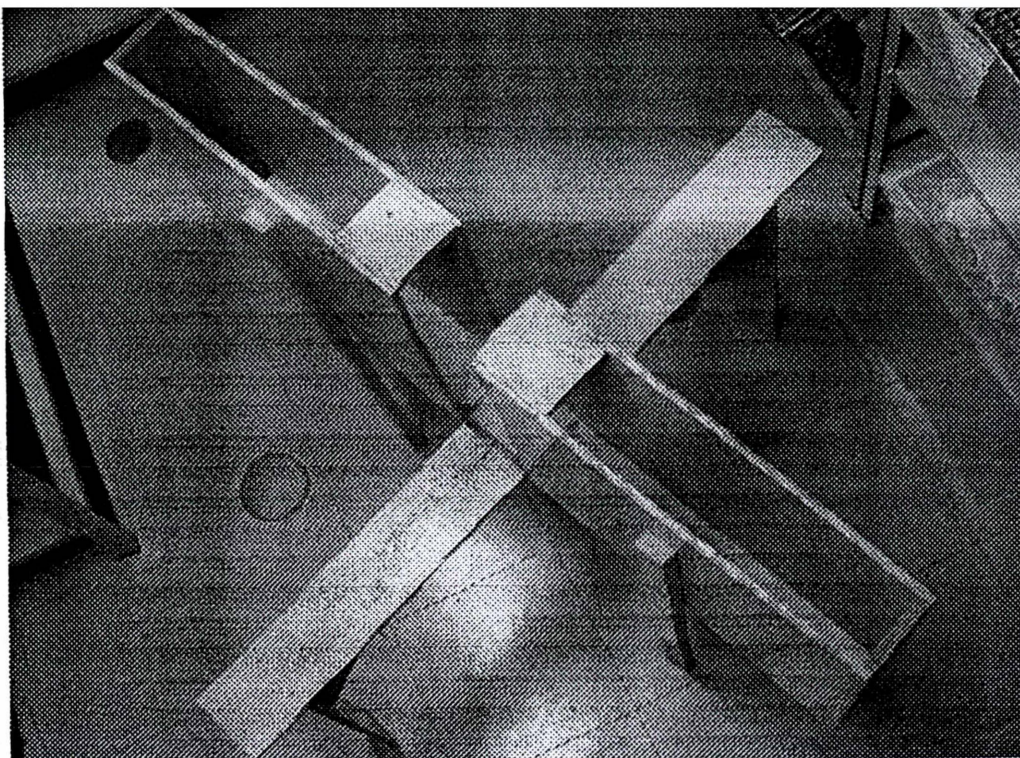


Figura 6. Labirinto em Cruz Elevado.

#### 4.3.2 Campo Aberto (CA)

Construído em madeira (piso) e aço escovado (paredes) constitui uma arena circular (1 m de diâmetro) com o assoalho pintado de branco, subdividido com linhas pretas traçadas através de dois círculos concêntricos e várias linhas radiais formando figuras semelhantes a “quadrados”. A arena é circundada por uma parede de aço escovado de 50 cm de altura. A 1 m acima do assoalho, há quatro lâmpadas de 100 watts cada (Figura 7). Cada animal foi colocado no centro da arena e o seu comportamento quantificado durante 3 min. Os parâmetros registrados foram os seguintes: número de áreas invadidas (ambulação), número de vezes que o animal se apóia nas patas traseiras assumindo posição vertical (elevação ou *rearing*), tempo no qual o animal permanece parado sem realizar qualquer outro comportamento (imobilidade ou *freezing*), tempo que o animal realiza autolimpeza (*grooming*), tempo de latência para o animal abandonar o centro da arena.

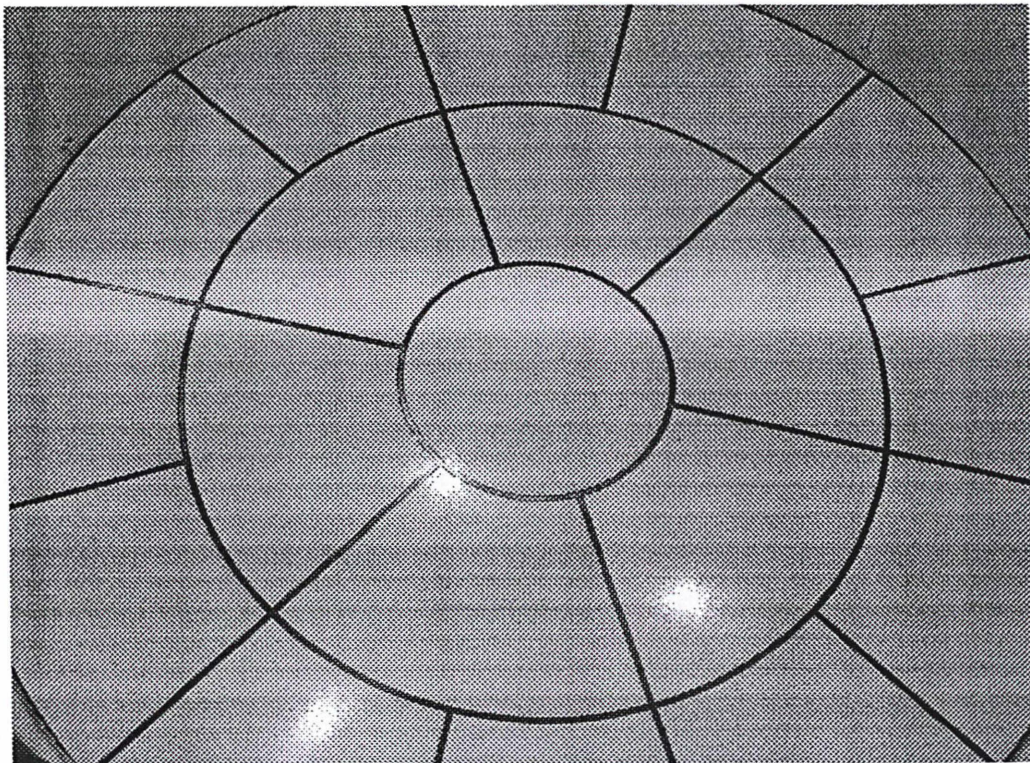


Figura 7. Campo Aberto.

### 4.3.3 Caixa de Movimentação Espontânea (CME)

Construída com aço escovado e acrílico, consiste em uma caixa medindo 60 × 20 × 30 cm, com três paredes em aço e uma (frontal) em acrílico transparente escuro. O assoalho é formado por barras de aço de 0,5 cm de diâmetro separadas entre si por 1 cm, e o teto de aço (tampa removível) (Figura 8). Cada animal é colocado no interior do equipamento e sua atividade registrada durante 3 min através do número de vezes que o animal cruza espaços demarcados dentro da caixa. Outros parâmetros avaliados: número de vezes que o animal se apóia nas patas traseiras assumindo posição vertical (elevação ou *rearing*), tempo no qual o animal permanece parado sem realizar qualquer outro comportamento (imobilidade ou *freezing*).

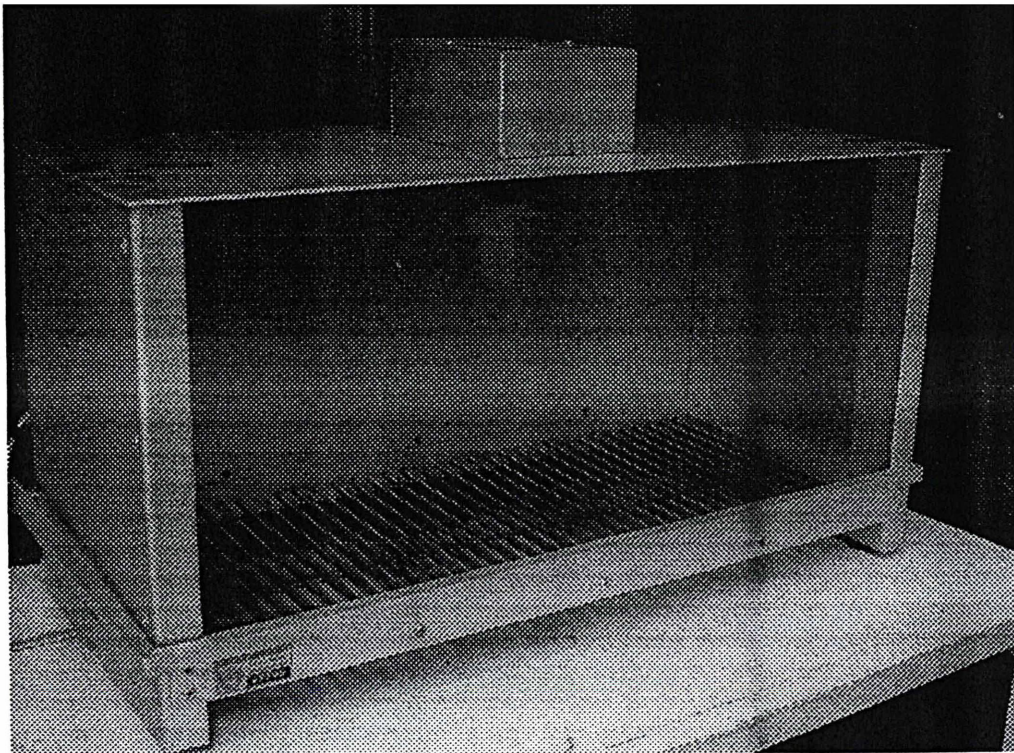


Figura 8. Caixa de Movimentação Espontânea.

## 4.4 PROCEDIMENTOS

Além dos experimentos propostos inicialmente, foram realizados experimentos adicionais na tentativa de elucidar algumas dúvidas que surgiram no decorrer do desenvolvimento experimental. A seguir estão descritos os procedimentos na sequência em que os experimentos foram realizados.

### 4.4.1 Curva dose-efeito de fluoxetina/paroxetina

Camundongos foram distribuídos aleatoriamente em 11 grupos (n=15 animais/grupo) e receberam salina, fluoxetina nas doses: 0,1, 0,5, 1, 5, 10 e 20 mg/kg e paroxetina nas doses de 1, 5, 10 e 20 mg/kg. Após 30 min da primeira administração das drogas (teste agudo) foram observadas alterações comportamentais dos camundongos usando os testes de campo aberto, movimentação espontânea e labirinto em cruz elevado, expostos numa sequência aleatória a cada um destes testes. Aproximadamente 40 animais passaram diariamente pelos três equipamentos.

A partir de então, as doses de fluoxetina, paroxetina e salina foram administradas aos animais, diariamente e no mesmo horário, durante quatro semanas. Após este período foram realizados os mesmos testes, nas mesmas condições descritas acima.

Uma dose que causou alteração comportamental e uma dose que não causou alteração no comportamento dos animais foram escolhidas para serem utilizadas nos experimentos subsequentes.

#### **4.4.2 Avaliação da co-administração de fluoxetina nos efeitos ansiolítico e estimulante do etanol; tratamentos agudo e crônico (14 e 28 dias)**

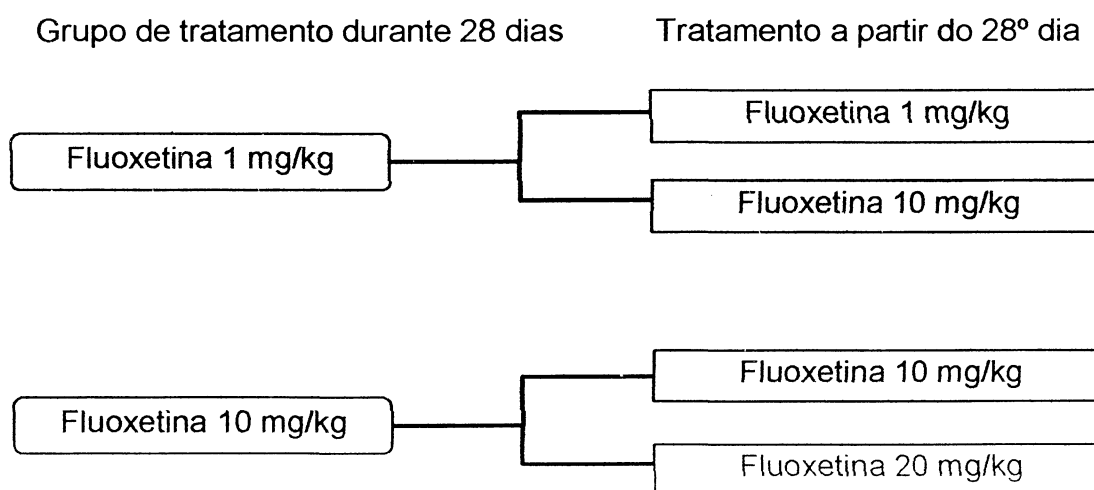
Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos (n=20 animais/grupo), e receberam respectivamente: salina (s), etanol 2 g/kg (e), fluoxetina 0,5 mg/kg (f0,5), fluoxetina 1 mg/kg (f1), fluoxetina 10 mg/kg (f10) e suas associações com etanol. Os testes labirinto em cruz elevado, campo aberto e caixa de movimentação espontânea foram realizados em quatro ocasiões: avaliação do comportamento basal (sem nenhum tratamento), avaliação do efeito agudo dos respectivos tratamentos (14 dias após a avaliação basal) e avaliação dos efeitos da administração crônica após 14 e 28 dias de tratamento. Etanol e salina foram administradas 10 min antes dos testes. A administração de fluoxetina ocorreu 30 min antes do início dos testes. Aproximadamente 40 animais passaram pelos três testes por dia.

#### **4.4.4 Avaliação da co-administração de paroxetina nos efeitos ansiolítico e estimulante do etanol; tratamentos agudo e crônico (14 e 28 dias)**

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos (n=20 animais/grupo), e receberam respectivamente: salina (s), etanol 2 g/kg (e), paroxetina 1 mg/kg (p1), paroxetina 5 mg/kg (p5) e suas associações com etanol. Os testes labirinto em cruz elevado, campo aberto e caixa de movimentação espontânea foram realizados em quatro ocasiões: avaliação do comportamento basal (sem nenhum tratamento), avaliação do efeito agudo dos respectivos tratamentos (14 dias após a avaliação basal) e avaliação dos efeitos da administração crônica após 14 e 28 dias de tratamento. Etanol e salina foram administradas 10 min antes dos testes. A administração de paroxetina ocorreu 30 min antes do início dos testes. Aproximadamente 40 animais passaram pelos três testes por dia.

#### 4.4.5 Avaliação da co-administração de fluoxetina nos efeitos ansiolítico e estimulante do etanol; tratamento crônico de 42 dias

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos (n=15 animais/grupo), que receberam respectivamente: salina (s), etanol 2 g/kg (e), fluoxetina 1 mg/kg (f1), fluoxetina 10 mg/kg (f10) e suas associações com etanol por um período de 28 dias. A partir do teste do 28º dia metade dos animais que estavam recebendo fluoxetina 1 ou 10 mg/kg ou suas associações com etanol continuaram recebendo o mesmo tratamento por mais 14 dias. A outra metade teve a sua dose de ISRS aumentada conforme esquema abaixo:



Os testes labirinto em cruz elevado, campo aberto e caixa de movimentação espontânea foram realizados em quatro ocasiões: avaliação do comportamento basal (sem nenhum tratamento), avaliação do efeito agudo dos respectivos tratamentos (14 dias após a avaliação basal) e avaliação dos efeitos da administração crônica após 14, 28 e 42 dias de tratamento. Etanol e salina foram administradas 10 min antes dos testes. A administração de fluoxetina ocorreu 30 min antes do início dos testes. Aproximadamente 40 animais passaram pelos três testes por dia.

#### **4.4.6 Avaliação da co-administração de L-triptofano nos efeitos ansiolítico e estimulante do etanol; tratamentos agudo e crônico**

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (n=12 animais/grupo), que receberam respectivamente: salina (s), etanol 2 g/kg (e), L-triptofano 100 mg/kg (t) e etanol + L-triptofano. Os testes labirinto em cruz elevado, campo aberto e caixa de movimentação espontânea foram realizados em quatro ocasiões: avaliação do comportamento basal (sem nenhum tratamento), avaliação do efeito agudo dos respectivos tratamentos (14 dias após a avaliação basal) e avaliação dos efeitos da administração crônica após 14 e 28 dias de tratamento. Etanol, salina e L-triptofano foram administrados 10 min antes dos testes. Aproximadamente 40 animais passaram pelos três testes por dia.

#### **4.4.7 Avaliação do efeito ansiolítico agudo da fluoxetina e paroxetina**

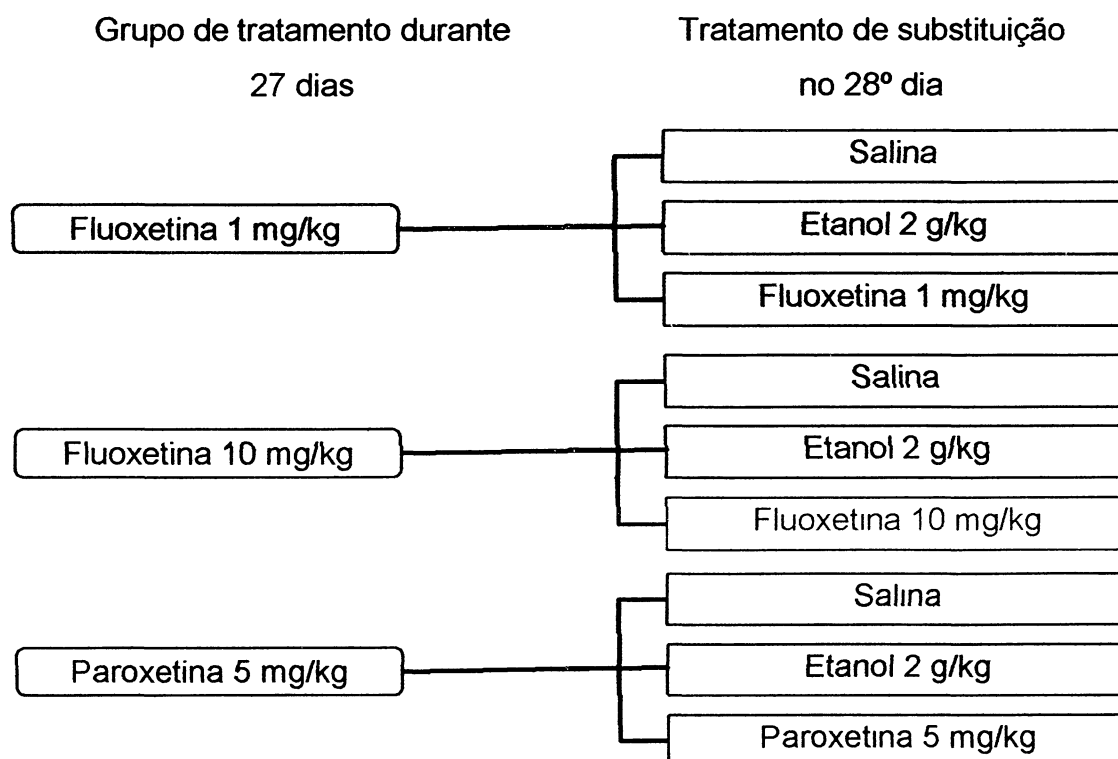
Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 12 grupos (n=10 animais/grupo), que receberam respectivamente: salina (s), diazepam 2 mg/kg (d), anfetamina 2 mg/kg (A), fluoxetina nas doses de 1, 10, 20 e 40 mg/kg; e paroxetina nas doses 5, 10, 20 e 40 mg/kg. Salina, diazepam e anfetamina foram administradas 10 min antes dos testes. A administração de fluoxetina ou paroxetina ocorreu 30 min antes do início dos testes. Neste experimento os testes foram labirinto em cruz elevado e campo aberto. Aproximadamente 40 animais passaram pelos dois testes por dia.

No labirinto em cruz elevado além das variáveis citadas anteriormente também foram contabilizados o tempo total no centro e os comportamentos de *head dipping*, *rearing* e SAP. No campo aberto também foi observado o comportamento de SAP.

#### 4.4.8 Avaliação do efeito da substituição do tratamento crônico com fluoxetina/paroxetina pelo etanol

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos de 45 animais cada. Por 27 dias os animais foram tratados com fluoxetina ou paroxetina e no 28º dia cada grupo foi dividido em 3 subgrupos de 15 animais e receberam tratamentos conforme o esquema abaixo.

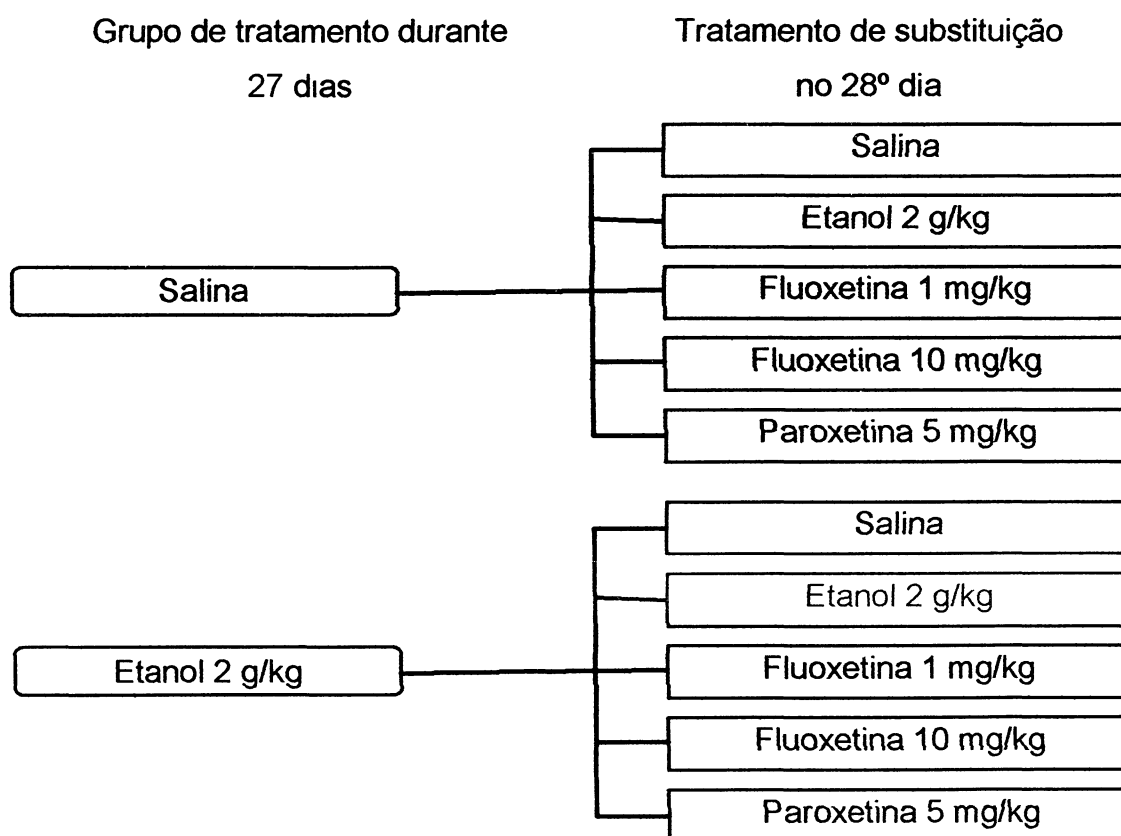
Os testes foram realizados no 28º dia de tratamento, 10 min após a administração de salina ou etanol e 30 min após a administração de fluoxetina ou paroxetina, quando foram observados os comportamentos dos camundongos nos três modelos experimentais.



#### 4.4.9 Avaliação do efeito da substituição do tratamento crônico com etanol por fluoxetina/paroxetina

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos de 75 animais cada. Os animais foram tratados com etanol ou salina por 27 dias e no 28º dia cada grupo foi dividido em 5 subgrupos de 15 animais cada que receberam tratamentos conforme o esquema abaixo.

Os testes foram realizados no 28º dia de tratamento, 10 min após a administração de salina ou etanol e 30 min após a administração de fluoxetina ou paroxetina, quando foram observados os comportamentos dos camundongos nos três modelos experimentais.



#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as medidas obtidas nos procedimentos experimentais foram testadas quanto à homogeneidade da variância e normalidade da distribuição. As medidas que não apresentaram distribuição normal foram analisadas pelos testes não paramétricos de Kruskal Wallis para comparações entre grupos independentes seguido do teste de comparações múltiplas ou o teste “U” de Mann Whitney. Para comparações dentro do mesmo grupo ao longo do tempo, foi utilizado o teste de Friedman seguido pelo teste de Wilcoxon. Para as variáveis com distribuição normal e variância homogênea foram realizadas análises de variância (ANOVA) de uma via. Em seguida, as comparações entre os grupos ou entre os tratamentos foram feitas através do teste de Newmann Keuls. Para comparações entre os tratamentos agudo e crônico de variáveis com distribuição normal foi utilizado teste “t” pareado de Student. O nível de significância utilizado foi de 5%. Foi utilizado o software STATISTICA (Statsoft).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 CURVA DOSE-EFEITO DE FLUOXETINA

Este experimento foi realizado em duas etapas, cada uma com um grupo controle salina. Os resultados obtidos para esse tratamento foram comparados através de teste “t” de Student e não foram observadas diferenças entre os animais tratados com a mesma droga nas duas ocasiões. Para a análise comparativa como controle foram escolhidos aleatoriamente 15 animais do total de animais tratados com salina.

Os resultados obtidos da curva dose-resposta de fluoxetina (Tabela 1), demonstraram que os grupos de tratamento com as diferentes doses não apresentaram diferenças entre si na ambulação no campo aberto nas avaliações aguda e crônica [ $F_{\text{agudo}}(6,75) = 0,27$ ,  $p = 0,94$  e  $F_{\text{crônico}}(6,73) = 2,07$ ,  $p = 0,07$ ]. A comparação entre os testes agudo e crônico mostrou que somente os animais tratados com fluoxetina 5 mg/kg não apresentaram uma diminuição significativa na ambulação no teste crônico [ $t_{F0,1}(g12) = 2,76$ ,  $p < 0,05$ ;  $t_{F0,5}(g19) = 3,11$ ,  $p < 0,05$ ;  $t_{F1}(g11) = 3,40$ ,  $p < 0,01$ ;  $t_{F5}(g19) = 1,3$ ,  $p = 0,22$ ;  $t_{F10}(g19) = 2,01$ ,  $p < 0,05$ ;  $t_{F20}(g10) = 2,28$ ,  $p < 0,05$ ;  $t_S(g12) = 1,63$ ,  $p = 0,13$ ].

Não foram observadas diferenças na ambulação na caixa de movimentação espontânea entre os grupos de tratamento na avaliação aguda [ $F(6,76) = 2,24$ ,  $p = 0,05$ ] e nem na avaliação crônica [ $F(6,77) = 0,75$ ,  $p = 0,61$ ]. Foi observado que somente os animais tratados com a dose 1 mg/kg apresentaram redução significativa na ambulação nas duas ocasiões de teste [ $t_{F0,1}(g12) = 1,96$ ,  $p = 0,07$ ;  $t_{F0,5}(g12) = 0,33$ ,  $p = 0,74$ ;  $t_{F1}(g11) = 2,39$ ,  $p < 0,05$ ;  $t_{F5}(g19) = 1,19$ ,  $p = 0,26$ ;  $t_{F10}(g19) = 1,97$ ,  $p = 0,08$ ;  $t_{F20}(g10) = -0,24$ ,  $p = 0,81$ ;  $t_S(g12) = 0,51$ ,  $p = 0,62$ ].

Tabela 1 - Efeito de diferentes doses de fluoxetina no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado em camundongos

Aparelho	Variável	Ocasião	Salina	Fluoxetina 0,1 mg/kg	Fluoxetina 0,5 mg/kg	Fluoxetina 1 mg/kg	Fluoxetina 5 mg/kg	Fluoxetina 10 mg/kg	Fluoxetina 20 mg/kg
Campo aberto	Ambulação	Agudo	70 ± 2,4	69 ± 3,9	69 ± 5,7	92 ± 9,4	70 ± 7,6	73 ± 7,5	76 ± 4,3
		Crônico	62 ± 4,9	52 ± 4,5 <sup>a</sup>	54 ± 4,5 <sup>a</sup>	63 ± 5,8 <sup>a</sup>	64 ± 5,2	63 ± 4,8 <sup>a</sup>	61 ± 6,4 <sup>a</sup>
Caixa de movimentação espontânea	Ambulação	Agudo	26 ± 3,3	30 ± 2,7	29 ± 2,0	33 ± 5,4	25 ± 1,8	33 ± 3,9	26 ± 2,3
		Crônico	25 ± 1,4	26 ± 3,6	28 ± 2,3	23 ± 2,8 <sup>a</sup>	22 ± 2,9	27 ± 3,5	27 ± 2,4
	Total de	Agudo	14 ± 0,4	12 ± 0,8	11 ± 1,1	12 ± 0,6	13 ± 2,0	17 ± 1,2	12 ± 1,3
Labirinto em cruz elevado	entradas	Crônico	12 ± 0,7	12 ± 0,7	12 ± 0,9	11 ± 1,3	12 ± 2,0	12 ± 1,5 <sup>a</sup>	13 ± 0,6
	% Tempo braço aberto	Agudo	65 ± 1,9	69 ± 3,5	68 ± 5,6	39 ± 0,6 <sup>*</sup>	62 ± 8,9	63 ± 5,1	59 ± 4,6
		Crônico	60 ± 2,5	65 ± 4,8	65 ± 5,1	55 ± 4,8 <sup>a</sup>	54 ± 7,2	59 ± 10,6	60 ± 4,6

Os animais foram tratados e testados conforme descrito em Material e Métodos item 4.4.1.

Os dados estão representados como média ± erro padrão das variáveis obtidas nos testes, conforme descrito em Material e Métodos item 4.3.

a – difere do tratamento agudo (teste “t” de Student, p < 0,05).

\* difere de todos os grupos tratamento (ANOVA, seguida de teste de Newman-Keuls, p < 0,05).

Os animais tratados com a dose 10 mg/kg mostraram um aumento significativo no número total de entradas nos braços abertos e fechados do labirinto em cruz elevado na avaliação aguda em relação a todos os outros grupos de tratamento [ $F(6,77) = 2,63, p < 0,05$ ]. Cronicamente não foram observadas diferenças entre os grupos analisados [ $F(6,77) = 0,39, p = 0,88$ ]. Ao longo das ocasiões de teste foi observada alteração significativa nesse parâmetro somente dos animais tratados com fluoxetina 10 mg/kg, que mostraram redução no número total de entradas na avaliação crônica em relação à avaliação aguda [ $t_{F0,1}(g12) = 1,18, p = 0,85$ ;  $t_{F0,5}(g12) = -0,52, p = 0,61$ ;  $t_{F1}(g11) = 0,92, p = 0,38$ ;  $t_{F5}(g9) = 0,33, p = 0,74$ ;  $t_{F10}(g9) = 2,62, p < 0,05$ ;  $t_{F20}(g10) = -1,12, p = 0,29$ ;  $t_S(g12) = 1,91, p = 0,08$ ].

Pode-se observar que os animais tratados com fluoxetina 1 mg/kg apresentaram valores na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado na avaliação aguda [ $F(6,69) = 1,82, p < 0,05$ ] significativamente menores que todos outros grupos de tratamento. Na avaliação crônica não foram observadas diferenças entre os tratamentos [ $F(6,69) = 0,73, p = 0,57$ ]. O grupo de tratamento fluoxetina 1 mg/kg apresentou no teste crônico um aumento na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado quando comparado com o teste agudo. [ $t_{F0,1}(g10) = 1,31, p = 0,19$ ;  $t_{F0,5}(g10) = 0,92, p = 0,37$ ;  $t_{F1}(g10) = 7,16, p < 0,001$ ;  $t_{F5}(g10) = -0,61, p = 0,55$ ;  $t_{F10}(g9) = -0,23, p = 0,81$ ;  $t_{F20}(g10) = -0,04, p = 0,96$ ;  $t_S(g10) = 1,51, p = 0,15$ ].

Considerando os dados acima, foram utilizadas as seguintes doses de fluoxetina: 0,5 mg/kg que não causou alteração comportamental, e as doses 1 e 10 mg/kg que causaram alteração comportamental para os experimentos subseqüentes.

## 5.2 CURVA DOSE-EFEITO DE PAROXETINA

Com relação aos resultados da curva dose-resposta de paroxetina (Tabela 2) pode-se observar que na ambulacão no campo aberto não foram observadas diferenças entre os grupos de tratamento na avaliação aguda [ $F(4,43) = 0,59, p = 0,67$ ]. Na avaliação crônica os grupos de tratamento paroxetina 1, 5 e 20 mg/kg apresentaram uma diminuição significativa da

ambulação com relação ao grupo salina e ao grupo paroxetina 10 mg/kg [ $F(4,45) = 4,03, p < 0,05$ ]. Ao longo das ocasiões de teste os grupos de tratamento paroxetina 1, 5, 10 e 20 mg/kg apresentaram diminuição na ambulação no campo aberto com relação à avaliação aguda [ $t_{P1}(gI9) = 6,45, p < 0,001$ ;  $t_{P5}(gI9) = 4,96, p < 0,001$ ;  $t_{P10}(gI8) = 3,04, p < 0,05$ ;  $t_{P20}(gI9) = 9,45, p < 0,001$ ;  $t_S(gI8) = 1,48, p = 0,18$ ].

O grupo de animais tratado com 10 mg/kg de paroxetina apresentou ambulação na caixa de movimentação espontânea significativamente maior que o grupo salina na avaliação aguda [ $F(4,48) = 4,17, p < 0,01$ ], não sendo observadas diferenças entre os tratamentos no teste crônico [ $F(4,53) = 2,08, p = 0,10$ ].

Também não foram observadas alterações significativas na ambulação ao longo das ocasiões de teste para os grupos de tratamento paroxetina 1, 10 e 20 mg/kg. Somente o grupo paroxetina 5 mg/kg apresentou um aumento na ambulação no teste crônico com relação ao teste agudo [ $t_{P1}(gI8) = 0,67, p = 0,51$ ;  $t_{P5}(gI7) = -3,73, p < 0,05$ ;  $t_{P10}(gI9) = -0,52, p = 0,62$ ;  $t_{P20}(gI8) = 0,18, p = 0,86$ ;  $t_S(gI8) = -0,87, p = 0,41$ ].

Com relação ao número total de entradas nos braços abertos e fechados do labirinto em cruz elevado não foram observadas diferenças entre os grupos de tratamento nas avaliações aguda e crônica [ $F_{agudo}(4,56) = 0,98, p = 0,42$  e  $F_{crônico}(4,56) = 1,20, p = 0,32$ ]. Nenhuma alteração significativa foi observada em qualquer dos grupos de tratamento ao longo das ocasiões de teste [ $t_{P1}(gI9) = -1,89, p = 0,09$ ,  $t_{P5}(gI9) = -1,93, p = 0,10$ ,  $t_{P10}(gI10) = -1,83, p = 0,09$ ,  $t_{P20}(gI8) = -0,74, p = 0,48$ ;  $t_S(gI8) = -0,86, p = 0,41$ ].

Tabela 2 - Efeito de diferentes doses de paroxetina no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado em camundongos

Aparelho	Variável	Ocasião	Salina	Paroxetina 1 mg/kg	Paroxetina 5 mg/kg	Paroxetina 10 mg/kg	Paroxetina 20 mg/kg	
Campo aberto	Ambulação	Agudo	77±4,6	81±2,9	86±4,7	90±9,9	88±7,3	
		Crônico	66±4,4	53±4,2 <sup>* 10 a</sup>	53±4,0 <sup>* 10 a</sup>	70±5,8 <sup>a</sup>	48±3,0 <sup>* 10 a</sup>	
Caixa de movimentação espontânea	Ambulação	Agudo	24±1,4	29±1,8	28±2,3	36±3,1 <sup>*</sup>	31±1,6	
		Crônico	26±2,5	27±2,4	32±2,1 <sup>a</sup>	34±2,6	30±1,9	
		Total de	Agudo	11±0,6	13±0,6	13±0,4	11±1,0	12±0,8
Labirinto em cruz elevado	% Tempo no braço aberto	entradas	Crônico	12±1,1	15±0,7	13±1,2	16±0,8	14±0,9
		Agudo	65 ± 3,5	65±2,8	75±1,4 <sup>*1 10</sup>	64±2,9	67±2,1	
		Crônico	59 ± 4,1	57±2,8	56±3,0 <sup>a</sup>	62±2,8	56±2,8 <sup>a</sup>	

Os animais foram tratados e testados conforme descrito em Material e Métodos item 4.4.2.

Os dados estão representados como média ± erro padrão das variáveis obtidas nos testes, conforme descrito em Material e Métodos item 4.3.

a – difere do tratamento agudo (teste “t” de Student,  $p < 0,05$ ).

\* difere do grupo tratado com salina; <sup>5</sup> difere do grupo tratado com 5 mg/kg, <sup>10</sup> difere do grupo tratado com 10 mg/kg, <sup>20</sup> difere do grupo tratado com 20 mg/kg (ANOVA, seguida de teste de Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ).

Os animais tratados com paroxetina 5 mg/kg apresentaram valores de porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado significativamente maiores na avaliação aguda [ $F(4,46) = 2,68, p < 0,05$ ] que aqueles dos grupos de tratamento salina e paroxetina 1 e 10 mg/kg. Na avaliação crônica não foram observadas diferenças entre os tratamentos [ $F(4,47) = 0,84, p = 0,51$ ]. Os grupos de tratamento paroxetina 5 e 20 mg/kg apresentaram uma diminuição na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado quando comparado com o teste agudo. Os grupos de animais tratados com as doses de 1 e 10 mg/kg não apresentaram alterações significativas ao longo das ocasiões de teste [ $t_{P1}(g|9) = 1,32, p = 0,23$ ;  $t_{P5}(g|8) = 4,04, p < 0,05$ ;  $t_{P10}(g|9) = 0,67, p = 0,53$ ,  $t_{P20}(g|9) = 6,57, p < 0,05$ ;  $t_S(g|8) = -0,68, p = 0,53$ ].

Considerando os dados acima, foram utilizadas as doses de paroxetina de 1 mg/kg que não causou alteração comportamental e 5 mg/kg que causou alteração comportamental para os experimentos subsequentes.

### **5.3 AVALIAÇÃO DA CO-ADMINISTRAÇÃO DE FLUOXETINA/PAROXETINA SOBRE OS EFEITOS ANSIOLÍTICO E ESTIMULANTE DO ETANOL: TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO**

Estes experimentos foram realizados em três etapas, sendo que em cada etapa haviam grupos controle salina e etanol. Os resultados obtidos para esses tratamentos foram comparados através de teste ANOVA e não foram observadas diferenças entre os animais tratados com a mesma droga nas três ocasiões. Para as análises comparativas foram escolhidos aleatoriamente os resultados de 20 camundongos do total de animais tratados com salina ou etanol.

#### **Efeito estimulante**

No teste agudo, os animais tratados com etanol (Figura 9) apresentaram um aumento significativo na atividade locomotora somente na caixa de movimentação espontânea em relação ao grupo salina [ $F(3,58) = 3,72, p < 0,05$ ] e ao teste sem droga [ $F(3,42) = 9,39, p < 0,001$ ]. A partir do

14º dia foi observado um aumento significativo na ambulação nos três testes com relação às avaliações anteriores [ $F_{CA(3,42)} = 16,16$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{CME(3,42)} = 9,39$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{LCE(3,39)} = 9,81$ ,  $p < 0,001$ ] e ao tratamento salina [ $F_{14 \text{ dias}(3,61)} = 76,43$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}(3,60)} = 32,82$ ,  $p < 0,001$ ].

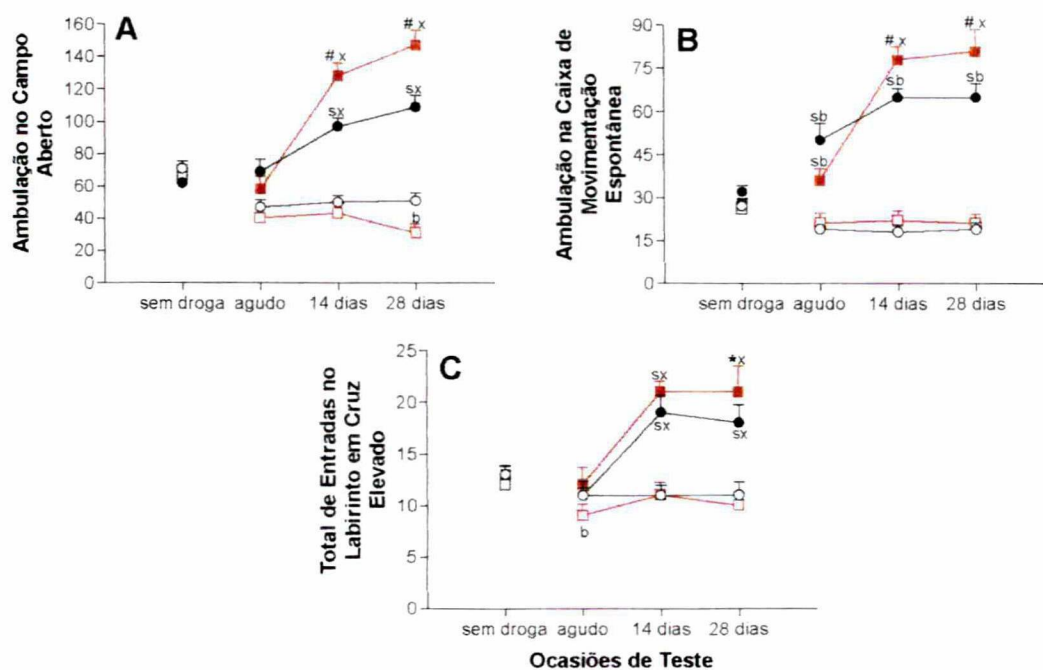


Figura 9. Efeitos da associação fluoxetina 10 mg/kg e etanol

Efeitos comportamentais em camundongos nas quatro diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14 e 28 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: etanol 2 g/kg (●), etanol + fluoxetina 10 mg/kg (■), fluoxetina 10 mg/kg (□) e salina (○). A – Ambulação no Campo Aberto (número de quadrados invadidos). B – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea (número transições entre espaços demarcados). C – Total de entradas no Labirinto em Cruz Elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de:  $\underline{s}$  salina;  $\underline{f}$  fluoxetina;  $\underline{e}$  etanol;  $\ast$  salina e fluoxetina;  $\#$  salina, etanol e fluoxetina;  $\underline{b}$  teste sem droga;  $\underline{a}$  teste agudo;  $\underline{X}$  testes sem droga e agudo (ANOVA uma via seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

Agudamente a associação etanol + fluoxetina 10 mg/kg (Figura 9) também produziu aumento significativo na atividade locomotora somente na caixa de movimentação espontânea com relação ao grupo salina [ $F(3,58) = 3,72$ ,  $p < 0,05$ ] e ao teste sem droga [ $F(3,33) = 25,12$ ,  $p < 0,001$ ]. Após 14 dias a fluoxetina potencializou este efeito do etanol no campo aberto [ $F_{14}$

dias(3,58) = 44,46,  $p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,57) = 59,69$ ,  $p < 0,001$ ] e na caixa de movimentação espontânea [ $F_{14 \text{ dias}}(3,61) = 76,43$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,60) = 32,82$ ,  $p < 0,001$ ]. No labirinto em cruz elevado, o número total de entradas no 14º foi maior do que no grupo salina [ $F(3,58) = 13,14$ ,  $p < 0,001$ ] e das avaliações anteriores [ $F(3,33) = 25,12$ ,  $p < 0,001$ ]. No teste do 28º dia esse aumento foi observado em comparação com os grupos salina e fluoxetina 10 mg/kg [ $F(3,59) = 8,72$ ,  $p < 0,001$ ].

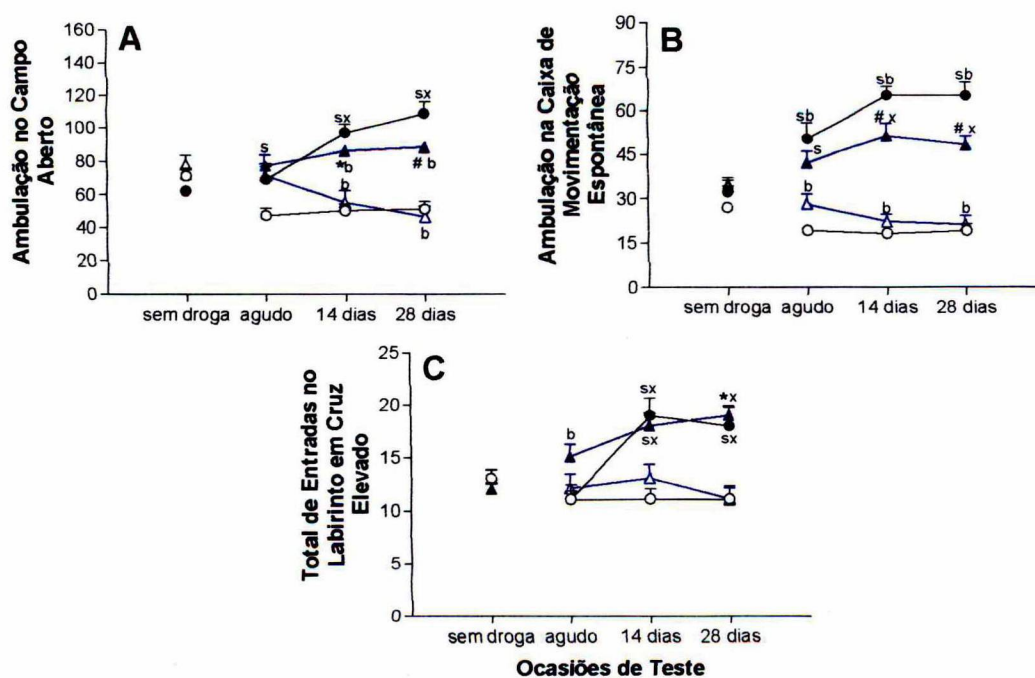


Figura 10. Efeitos da associação fluoxetina 1 mg/kg e etanol

Efeitos comportamentais em camundongos nas quatro diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14 e 28 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: etanol 2 g/kg (●), etanol + fluoxetina 1 mg/kg (▲), fluoxetina 1 mg/kg (△) e salina (○). A – Ambulação no Campo Aberto (número de quadrados invadidos). B – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea (número transições entre espaços demarcados). C – Total de Entradas no Labirinto em Cruz Elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina; f fluoxetina; e etanol; \* salina e fluoxetina; # salina, etanol e fluoxetina; b teste sem droga; a teste agudo; X testes sem droga e agudo; § testes sem droga, agudo e 14 dias (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

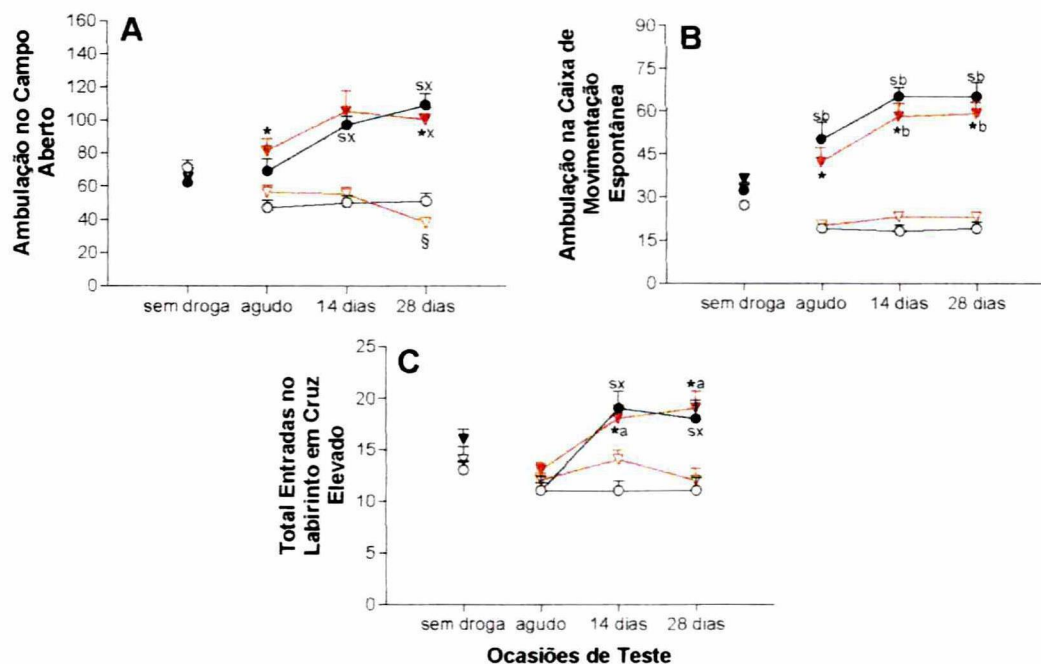


Figura 11. Efeitos da associação fluoxetina 0,5 mg/kg e etanol

Efeitos comportamentais em camundongos nas quatro diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14 e 28 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: etanol 2 g/kg (●), etanol + fluoxetina 0,5 mg/kg (▼), fluoxetina 0,5 mg/kg (▽) e salina (○). A – Ambulação no Campo Aberto (número de quadrados invadidos). B – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea (número transições entre espaços demarcados). C – Total de entradas no Labirinto em Cruz Elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: *s* salina; *f* fluoxetina; *e* etanol; \* salina e fluoxetina; *b* teste sem droga; *a* teste agudo; *X* testes sem droga e agudo; *§* testes sem droga, agudo e 14 dias (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

O tratamento agudo com etanol + fluoxetina 1 mg/kg (Figura 10) produziu um aumento significativo na ambulação tanto no campo aberto [ $F(3,67) = 5,38, p < 0,05$ ] quanto na caixa de movimentação espontânea [ $F(3,67) = 6,08, p < 0,05$ ] em relação ao grupo salina. No labirinto em cruz elevado a associação aumentou a ambulação em relação ao teste sem droga [ $F(3,45) = 10,83, p < 0,001$ ]. A partir do 14º dia de teste fluoxetina não alterou o efeito estimulante do etanol na caixa de movimentação espontânea [ $F_{14 \text{ dias}}(3,67) = 29,58, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,67) = 42,25, p < 0,001$ ] e no

campo aberto somente no 28º dia [ $F(3,64) = 22,33, p < 0,001$ ]. A partir do 14º dia foi observado um aumento significativo no número total de entradas no labirinto em cruz elevado em relação ao grupo salina [ $F(3,65) = 11,55, p < 0,001$ ] e ao teste sem droga [ $F(3,45) = 10,83, p < 0,001$ ], no 28º dia o mesmo aumento foi observado em relação aos animais tratados somente com fluoxetina 1 mg/kg [ $F(3,65) = 17,53, p < 0,001$ ].

O tratamento agudo com etanol + fluoxetina 0,5 mg/kg (Figura 11) produziu um aumento significativo na ambulação somente no campo aberto e na caixa de movimentação espontânea em relação ao grupo salina e ao grupo fluoxetina [ $F_{CA}(3,54) = 5,07, p < 0,05$ ;  $F_{CME}(3,54) = 12,24, p < 0,001$ ,  $F_{LCE}(3,54) = 0,67, p = 0,56$ ]. A partir do 14º dia de teste houve no campo aberto um aumento na ambulação em relação aos animais tratados com salina [ $F_{14 \text{ dias}}(3,53) = 17,08, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,53) = 43,45, p < 0,001$ ] e em relação às avaliações anteriores [ $F(3,33) = 5,56, p < 0,05$ ]. Na caixa de movimentação espontânea a partir do 14º dia de teste o aumento na ambulação foi observado em relação aos animais tratados com salina e fluoxetina [ $F_{14 \text{ dias}}(3,55) = 60,90, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,53) = 46,00, p < 0,001$ ] e em relação à avaliação sem droga [ $F(3,33) = 24,33, p < 0,001$ ]. A partir do 14º dia foi observado um aumento significativo no número total de entradas no labirinto em cruz elevado em relação aos grupos salina e fluoxetina [ $F_{14 \text{ dias}}(3,52) = 6,98, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,54) = 5,87, p < 0,05$ ] e à avaliação aguda [ $F(3,33) = 3,90, p < 0,05$ ].

A administração de etanol + paroxetina 5 mg/kg (Figura 12) agudamente produziu um aumento significativo na atividade locomotora somente na caixa de movimentação espontânea em relação ao teste sem droga [ $F(3,33) = 20,87, p < 0,05$ ] e ao grupo salina [ $F(3,58) = 5,71, p < 0,05$ ]. De maneira semelhante, houve um aumento no número total de entradas em relação a todos os grupos controles [ $F(3,59) = 3,90, p < 0,05$ ]. A partir do 14º dia a paroxetina potencializou o efeito de estimulação locomotora do etanol no campo aberto [ $F_{14 \text{ dias}}(3,59) = 26,70, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,59) = 31,63, p < 0,001$ ]. Na caixa de movimentação espontânea a potencialização ocorreu somente no 28º dia de tratamento [ $F(3,59) = 26,70, p < 0,001$ ]. Os animais tratados com etanol + paroxetina 5 mg/kg mostraram um aumento no número total de entradas no labirinto em cruz elevado no 28º dia de teste,

mas não foi estatisticamente diferente do grupo etanol [ $F(3,59) = 9,43$ ,  $p < 0,05$ ].

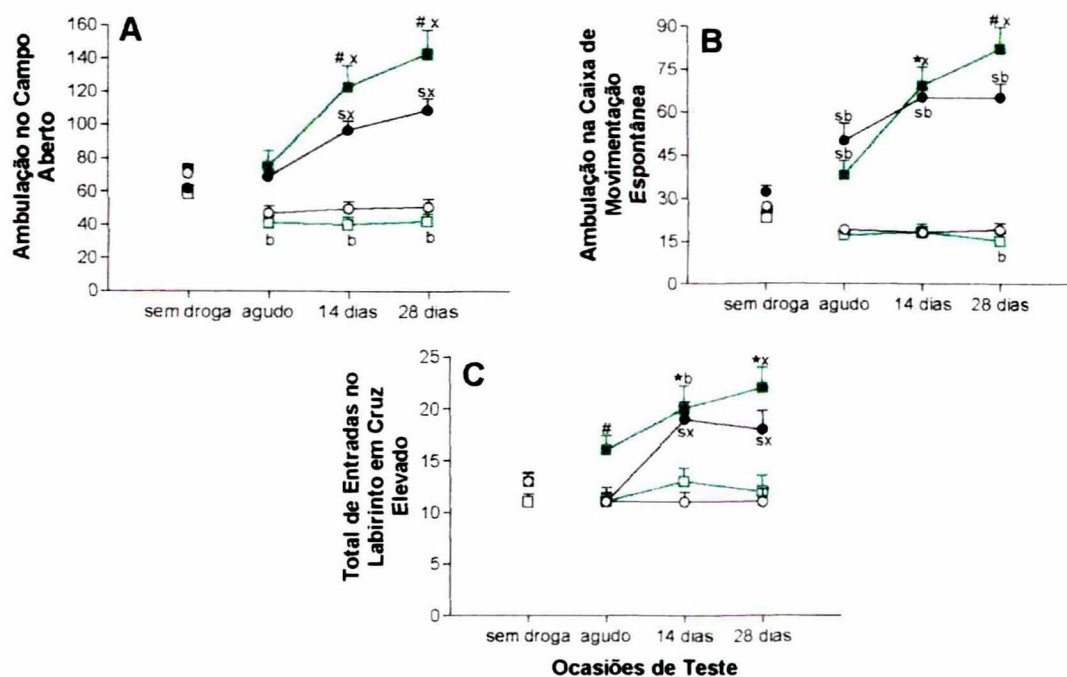


Figura 12. Efeitos da associação paroxetina 5 mg/kg e etanol

Efeitos comportamentais em camundongos nas quatro diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14 e 28 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: 2 g/kg (●), etanol + paroxetina 5 mg/kg (■), paroxetina 5 mg/kg (□) e salina (○). A – Ambulação no Campo Aberto (número de quadrados invadidos). B – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea (número transições entre espaços demarcados). C – Total de entradas no Labirinto em Cruz Elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina; p paroxetina; e etanol; \* salina e paroxetina; # salina, etanol e paroxetina; b teste sem droga; a teste agudo; X testes sem droga e agudo (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

O comportamento dos animais tratados com etanol + paroxetina 1 mg/kg (Figura 13) não diferiu do controle etanol nos três testes ao longo do tratamento. Esse grupo de tratamento somente apresentou aumento significativo na atividade locomotora no campo aberto [ $F(3,36) = 7,72$ ,  $p < 0,001$ ] e na caixa de movimentação espontânea [ $F(3,45) = 19,98$ ,  $p < 0,001$ ] a partir do 14º dia de teste em relação às avaliações anteriores e no labirinto em cruz elevado a partir do 1º dia de teste quando comparado ao teste sem droga [ $F(3,33) = 20,87$ ,  $p < 0,05$ ].

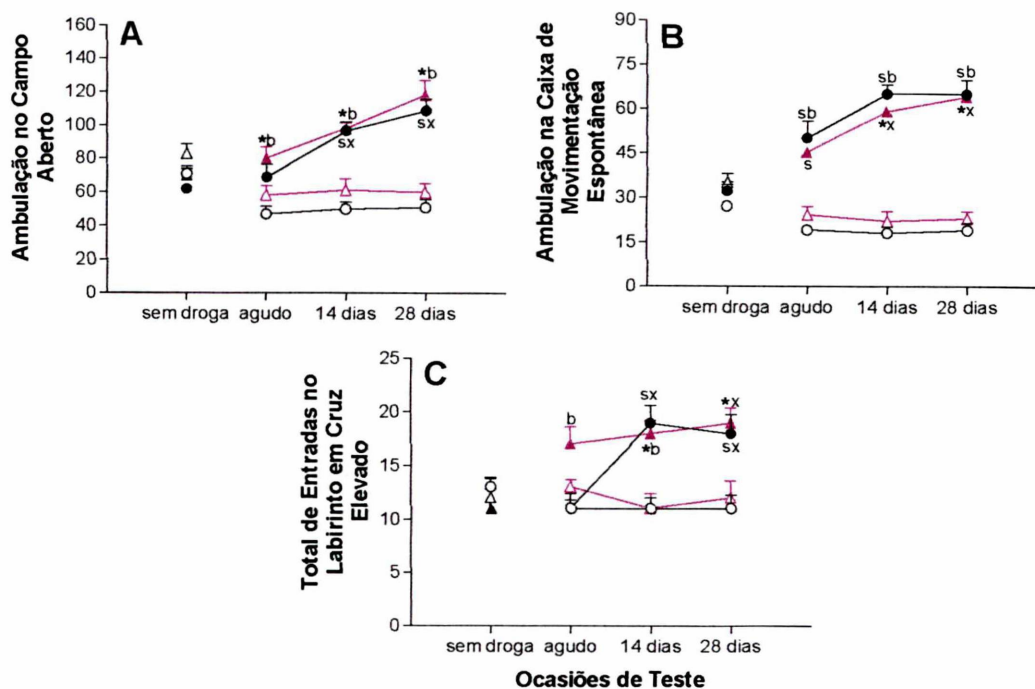


Figura 13. Efeitos da associação paroxetina 1 mg/kg e etanol

Efeitos comportamentais em camundongos nas quatro diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14 e 28 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: 2 g/kg (●), etanol + paroxetina 1 mg/kg (▲), paroxetina 1 mg/kg (△) e salina (○). A – Ambulação no Campo Aberto (número de quadrados invadidos). B – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea (número transições entre espaços demarcados). C – Total de entradas no Labirinto em Cruz Elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina; p paroxetina; e etanol; \* salina e paroxetina; b teste sem droga; a teste agudo; X testes sem droga e agudo (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

Agudamente o grupo tratado com fluoxetina 10 mg/kg (Figura 9) não apresentou diferenças significativas na atividade locomotora no campo aberto e caixa de movimentação espontânea, mas houve redução significativa no número total de entradas no labirinto em cruz elevado em relação à avaliação sem droga. Após 28 dias de tratamento, foi observado redução significativa na ambulação somente no campo aberto em relação ao teste sem droga [ $F_{CA}(3,39) = 14,31$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{CME}(3,39) = 1,04$ ,  $p = 0,38$ ;  $F_{LCE}(3,39) = 2,88$ ,  $p < 0,05$ ].

Os animais tratados com fluoxetina 1 mg/kg (Figura 10) agudamente apresentaram redução significativa na ambulação somente na caixa de

movimentação espontânea em relação ao teste sem droga. A partir do 14º dia essa redução na ambulação se manteve e também foi observada no campo aberto. No labirinto em cruz elevado não foram observadas diferenças ao longo do tratamento [ $F_{CA}(3,39) = 5,14, p < 0,05$ ;  $F_{CME}(3,48) = 9,53, p < 0,001$ ;  $F_{LCE}(3,39) = 0,95, p = 0,42$ ].

A dose de fluoxetina 0,5 mg/kg (Figura 11) não apresentou diferenças significativas entre tratamentos nas ocasiões de teste. Somente no campo aberto após 28 dias de tratamento houve uma redução significativa na ambulação em às ocasiões de testes anteriores [ $F_{CA}(3,33) = 8,73, p < 0,001$ ;  $F_{CME}(3,33) = 1,25, p = 0,31$ ;  $F_{LCE}(3,33) = 0,44, p = 0,72$ ].

O grupo tratado com paroxetina 5 mg/kg (Figura 12) agudamente apresentou redução significativa na ambulação no campo aberto em relação ao teste sem droga, sendo mantida na observação do 14º e 28º dias, enquanto que na caixa de movimentação espontânea a redução significativa foi observada somente no teste do 28º dia. O tratamento não produziu alterações significativas ao longo do tratamento no labirinto em cruz elevado [ $F_{CA}(3,33) = 5,66, p < 0,05$ ;  $F_{CME}(3,36) = 2,73, p < 0,05$ ;  $F_{LCE}(3,36) = 1,20, p = 0,32$ ].

A dose de paroxetina 1 mg/kg (Figura 13) não provocou diferenças significativas ao longo do tratamento em qualquer um dos testes [ $F_{CA}(3,39) = 1,64, p = 0,71$ ;  $F_{CME}(3,36) = 2,73, p = 0,11$ ;  $F_{LCE}(3,42) = 1,96, p = 0,13$ ].

O comportamento de ambulação no campo aberto e na caixa de movimentação espontânea e o número total de entradas no labirinto em cruz elevado dos animais tratados com salina (Figura 9) permaneceu semelhante ao observado no teste sem droga [ $F_{CA}(3,36) = 0,23, p = 0,74$ ;  $F_{CME}(3,41) = 0,96, p = 0,56$ ;  $F_{LCE}(3,33) = 0,23, p = 0,86$ ].

### **Efeito ansiolítico**

Os animais tratados com etanol agudamente apresentaram aumento significativo na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado em relação ao teste sem droga. A partir do teste do 14º dia foi observado aumento significativo em relação ao teste sem droga [ $F(3,48) = 6,12, p < 0,05$ ] e ao grupo salina [ $F_{14 \text{ dias}}(3,58) = 44,46, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,57) = 59,69, p < 0,001$ ].

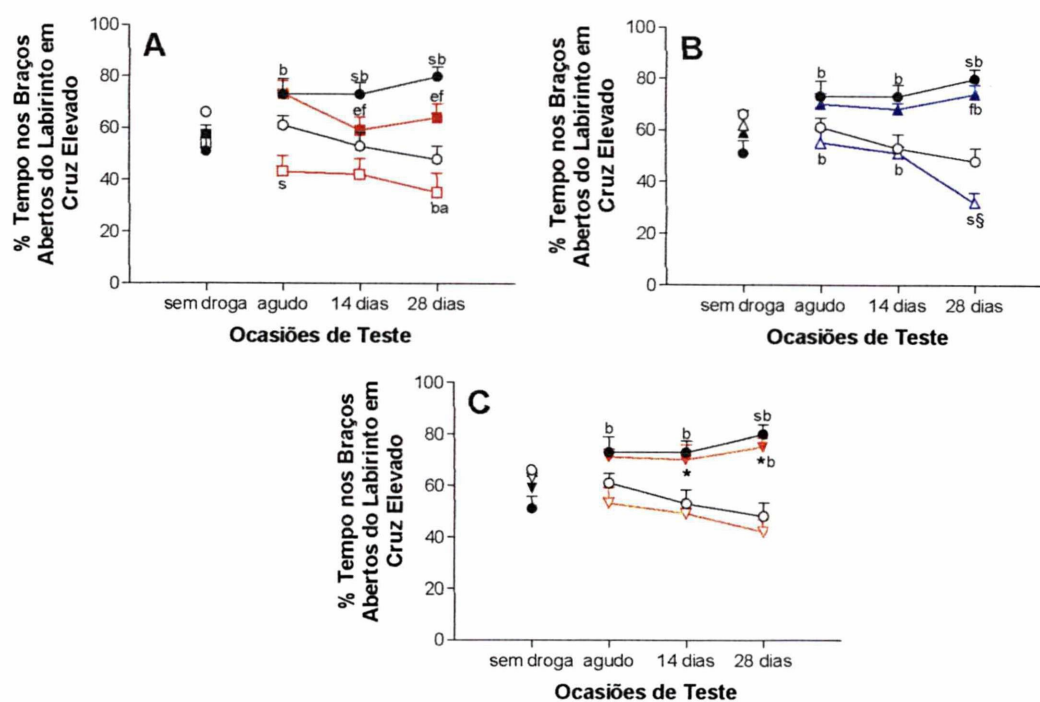


Figura 14. Efeitos da associação fluoxetina e etanol sobre a ansiedade

Efeitos comportamentais tempo nos braços abertos do Labirinto em Cruz Elevado em camundongos nas quatro diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14 e 28 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: etanol 2 g/kg -●-, etanol + fluoxetina 10 mg/kg -■- (A), etanol + fluoxetina 1 mg/kg -▲- (B), etanol + fluoxetina 0,5 mg/kg -▼- (C), fluoxetina 10 mg/kg -□-, fluoxetina 1 mg/kg -△-, fluoxetina 0,5 mg/kg -▽- e salina -○-. Os dados representam média ± erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: *s* salina; *f* fluoxetina; *e* etanol; *\** salina e fluoxetina; *b* teste sem droga; *a* teste agudo; *X* testes sem droga e agudo; *§* testes sem droga, agudo e 14 dias (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

Agudamente a associação etanol + fluoxetina 10 mg/kg (Figura 14–A) também produziu um aumento significativo na porcentagem de tempo nos braços abertos em relação ao teste sem droga [ $F(3,18) = 2,88$ ,  $p < 0,05$ ]. Após 14 dias de tratamento a associação diminuiu a porcentagem de tempo nos braços abertos, sendo menor que a observada nos animais tratados com etanol, porém, maior do que nos tratados somente com fluoxetina 10 mg/kg [ $F_{14 \text{ dias}}(3,58) = 44,46$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,57) = 59,69$ ,  $p < 0,001$ ].

Agudamente etanol associado com fluoxetina 1 mg/kg (Figura 14–B), fluoxetina 0,5 mg/kg (Figura 14–C), paroxetina 5 mg/kg (Figura 15–A) ou paroxetina 1 mg/kg (Figura 15–B) não apresentou diferenças significativas

na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado em relação as outras ocasiões de teste e tratamentos.

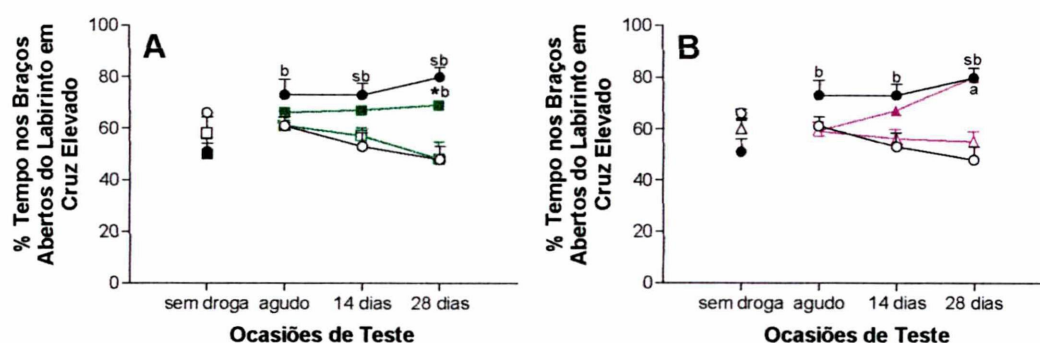


Figura 15. Efeitos da associação paroxetina e etanol sobre a ansiedade

Efeitos comportamentais % tempo nos braços abertos do Labirinto em Cruz Elevado em camundongos nas quatro diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14 e 28 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: 2 g/kg -●-, etanol + paroxetina 5 mg/kg -■- (A), etanol + paroxetina 1 mg/kg -▲-, paroxetina 1 mg/kg -△-, paroxetina 5 mg/kg -□- e salina -○-. Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina; p paroxetina; e etanol; \* salina e paroxetina; # salina, etanol e paroxetina; b teste sem droga; a teste agudo; x testes sem droga e agudo (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

No entanto, a partir do 14<sup>o</sup> dia de teste [ $F(3,53) = 4,37, p < 0,05$ ] foi observado que a administração de etanol + fluoxetina 0,5 mg/kg aumentou a porcentagem de tempo nos braços abertos em relação aos animais tratados com salina ou com fluoxetina, e no 28<sup>o</sup> dia de teste esse grupo de animais também apresentou aumento significativo neste parâmetro em relação ao teste sem droga [ $F(3,54) = 15,97, p < 0,001$ ]. No 28<sup>o</sup> dia foi observado que a administração de etanol + fluoxetina 1 mg/kg aumentou a porcentagem de tempo nos braços abertos em relação ao teste sem droga [ $F(3,39) = 4,87, p < 0,05$ ] e aos animais tratados somente com fluoxetina [ $F(3,68) = 20,57, p < 0,001$ ]. Também no 28<sup>o</sup> dia, a associação etanol + paroxetina 5 mg/kg aumentou esse parâmetro em relação ao teste sem droga [ $F(3,30) = 3,98, p < 0,05$ ] e ao grupo salina [ $F(3,59) = 10,87, p < 0,001$ ], sendo que para a associação com a menor dose de paroxetina o aumento ocorreu apenas em relação ao teste agudo [ $F(3,33) = 4,47, p < 0,05$ ].

Fluoxetina 10 mg/kg (Figura 14–A) agudamente reduziu significativamente a porcentagem de tempo nos braços abertos em relação ao grupo salina [ $F(3,29) = 13,04$ ,  $p < 0,001$ ] atingindo no teste do 28º dia uma diminuição significativa em relação aos testes sem droga e agudo [ $F(3,27) = 3,31$ ,  $p < 0,05$ ].

Nos testes agudo e do 14º dia, a fluoxetina 1 mg/kg (Figura 14–B) reduziu significativamente a porcentagem de tempo nos braços abertos em relação ao teste sem droga, sendo que no teste do 28º dia essa redução ocorreu em relação ao grupo salina [ $F(3,32) = 10,05$ ,  $p < 0,001$ ] e às ocasiões de testes anteriores [ $F(3,33) = 17,08$ ,  $p < 0,001$ ].

A dose de fluoxetina 0,5 mg/kg (Figura 15–C) não apresentou diferenças significativas entre tratamentos nas ocasiões de teste. Somente no campo aberto após 28 dias de tratamento houve uma redução significativa na ambulação em às ocasiões de testes anteriores [ $F_{CA}(3,33) = 8,73$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{CME}(3,33) = 1,25$ ,  $p = 0,31$ ;  $F_{LCE}(3,33) = 0,44$ ,  $p = 0,72$ ].

Os animais tratados com paroxetina 5 mg/kg [ $F(3,21)=0,21$ ,  $p=0,88$ ] (Figura 15–A) e paroxetina 1 mg/kg [ $F(3,39) = 0,95$ ,  $p = 0,41$ ] (Figura 15–B) não apresentaram diferenças significativas ao longo do tratamento. O mesmo ocorreu em relação aos animais tratados com salina [ $F(3,30) = 2,39$ ,  $p = 0,08$ ].

### Outros comportamentos analisados

A tabela 3 mostra os resultados do tempo de latência para abandonar a área central do campo aberto. Na avaliação basal não foi observada nenhuma diferença significativa entre os grupos de tratamento. O grupo de animais tratados com etanol apresentou uma redução significativa da latência no campo aberto comparado ao controle salina nas avaliações aguda e 14º dia [ $H_{\text{basal}}(3,61) = 3,21$   $p = 0,36$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 16,18$ ,  $p < 0,05$ ,  $H_{14 \text{ dias}}(3,66) = 8,86$ ,  $p < 0,05$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,68) = 7,15$   $p = 0,07$ ]. O mesmo ocorrendo com os animais tratados com etanol + fluoxetina 10 mg/kg, que além de diferirem do controle salina apresentaram uma redução significativa nesse comportamento em relação aos animais tratados somente com fluoxetina 10 mg/kg na segunda avaliação [ $H_{\text{basal}}(3,61) = 3,21$   $p = 0,36$ ,

$H_{\text{agudo}}(3,65) = 16,18, p < 0,05; H_{14 \text{ dias}}(3,66) = 8,86, p < 0,05; H_{28 \text{ dias}}(3,68) = 7,15 p = 0,07]$

Os animais tratados com a associação etanol + paroxetina 5 mg/kg apresentaram uma redução no tempo de latência diferentes dos controles nas duas últimas ocasiões de teste [ $H_{\text{basal}}(3,62) = 2,14 p = 0,54; H_{\text{agudo}}(3,65) = 4,28, p = 0,23; H_{14 \text{ dias}}(3,65) = 23,03, p < 0,001; H_{28 \text{ dias}}(3,66) = 16,34, p < 0,05]$

Os animais tratados com etanol associado com fluoxetina 1 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,69) = 0,93 p = 0,82; H_{\text{agudo}}(3,70) = 4,28, p = 0,23; H_{14 \text{ dias}}(3,69) = 3,12, p = 0,37; H_{28 \text{ dias}}(3,69) = 12,03, p = 0,07]$  ou paroxetina 1 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,65) = 1,29 p = 0,73; H_{\text{agudo}}(3,67) = 1,72, p = 0,63; H_{14 \text{ dias}}(3,66) = 3,26, p = 0,35; H_{28 \text{ dias}}(3,65) = 6,44, p = 0,09]$  não apresentaram diferenças significativas em relação aos animais controle.

Ao longo das ocasiões de teste, os tratamentos causaram efeitos semelhantes, ou seja, todos os grupos apresentaram queda abrupta no tempo de latência na segunda exposição ao teste (administração aguda), que permaneceu com os mesmos valores nos testes do 14° e 28° dias [ $\chi^2_{\text{s}}(3,18) = 7,64, p = 0,05; \chi^2_{\text{E}}(3,16) = 20,64, p < 0,001; \chi^2_{\text{F10}}(3,15) = 13,43, p < 0,01; \chi^2_{\text{F1}}(3,16) = 22,25, p < 0,001, \chi^2_{\text{P5}}(3,15) = 4,45, p = 0,20; \chi^2_{\text{P1}}(3,15) = 18,96, p < 0,001; \chi^2_{\text{E+F10}}(3,14) = 19,18, p < 0,001; \chi^2_{\text{E+F1}}(3,19) = 41,47, p < 0,001; \chi^2_{\text{E+P5}}(3,16) = 9,24, p < 0,05; \chi^2_{\text{E+P1}}(3,16) = 25,84, p < 0,001]$

Tabela 3 - Teste de atividade locomotora no campo aberto para as doses de fluoxetina, paroxetina e suas associações com etanol.

Variável	Ocasião	S	E	F1	F10	P1	P5	E + F1	E + F10	E + P1	E + P5
Latência	Sem droga	2 ± 2	2 ± 3	4 ± 4	3 ± 2	3 ± 3	2 ± 3	3,5 ± 2,5	2 ± 4	4 ± 3	1 ± 2
	Agudo	2 ± 2	0 ± 1 <sup>b*</sup>	2 ± 2 <sup>b</sup>	2 ± 3	2 ± 2 <sup>b</sup>	3 ± 3	1 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 2 <sup>b*f</sup>	2 ± 3 <sup>b</sup>	1 ± 4
	14 dias	1,5 ± 1	0 ± 1 <sup>b*</sup>	0,5 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 2 <sup>ba</sup>	1 ± 1,5 <sup>b</sup>	2 ± 3	0 ± 1 <sup>b</sup>	0 ± 1 <sup>b*</sup>	0 ± 1 <sup>b</sup>	0 ± 1 <sup>ba*p</sup>
	28 dias	1 ± 1	1 ± 1 <sup>b</sup>	1 ± 1 <sup>b</sup>	1 ± 2 <sup>ba</sup>	1 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 3	0 ± 1 <sup>b</sup>	1 ± 1,5 <sup>b</sup>	0,5 ± 1 <sup>ba</sup>	0 ± 1 <sup>ba*p</sup>
Rearing	Sem droga	20 ± 15	16,5 ± 10	32,5 ± 21	20,5 ± 13	21 ± 17	13 ± 14	24 ± 8	19 ± 16	23 ± 16	18 ± 7
	Agudo	12 ± 14	1 ± 2 <sup>b*</sup>	16,5 ± 21 <sup>b</sup>	8 ± 11 <sup>b</sup>	8,5 ± 12,5 <sup>b</sup>	4 ± 6 <sup>b</sup>	0 ± 3 <sup>b*f</sup>	0 ± 0 <sup>b*f</sup>	0 ± 0 <sup>b*p</sup>	0 ± 0 <sup>b*p</sup>
	14 dias	6 ± 7,5	8 ± 5 <sup>ba</sup>	6 ± 12 <sup>b</sup>	5 ± 6 <sup>b</sup>	4,5 ± 8 <sup>b</sup>	3 ± 4 <sup>b</sup>	8,5 ± 11 <sup>ba</sup>	6 ± 8 <sup>ba</sup>	4,5 ± 7 <sup>b</sup>	4 ± 8 <sup>ba</sup>
	28 dias	4 ± 6	6 ± 10 <sup>ba</sup>	4 ± 9 <sup>b</sup>	3 ± 6 <sup>ba</sup>	6 ± 8 <sup>b</sup>	3 ± 5 <sup>ba</sup>	8,5 ± 10,5 <sup>ba</sup>	3 ± 7 <sup>ba</sup>	2 ± 5 <sup>b</sup>	8 ± 15,5 <sup>ba</sup>
Freezing	Sem droga	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Agudo	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	14 dias	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	28 dias	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Grooming	Sem droga	6 ± 7	6 ± 7	0 ± 0	6 ± 8	0 ± 0	0 ± 7	0 ± 3	0 ± 7	0 ± 4	4 ± 7
	Agudo	1 ± 7	0 ± 7	0 ± 0	0 ± 6	0 ± 6	2 ± 6	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 2
	14 dias	6 ± 8	2,5 ± 15	1 ± 6	7 ± 11 <sup>a</sup>	0 ± 2	0 ± 4	0,5 ± 7,5	0 ± 0 <sup>ef</sup>	0 ± 0	3 ± 9,5
	28 dias	0 ± 6	3 ± 10	0 ± 5	5 ± 9 <sup>a</sup>	0 ± 1	4 ± 4	0 ± 6,5	0 ± 6	0 ± 3	0 ± 8

Os dados apresentados são mediana ± interquartil das variáveis obtidas dos animais tratados no campo aberto.

\* difere do grupo salina, e difere do etanol, f difere da fluoxetina 10 mg/kg, p difere da paroxetina 5 mg/kg (Kruskal Wallis seguido pelo teste "U" de Mann Whitney,  $p < 0,05$ ). b difere pelo teste sem droga, a difere do teste agudo (Friedman seguido pelo teste de Wilcoxon,  $p < 0,05$ ).

Com relação ao comportamento de elevar-se nas patas posteriores ou *rearing* no campo aberto (Tabela 3) o tratamento agudo com etanol causou uma diminuição significativa desse comportamento em relação aos animais tratados com salina [ $H_{\text{basal}}(3,67) = 2,23$   $p = 0,52$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 30,01$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,64) = 1,62$ ,  $p = 0,65$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,64) = 0,60$ ,  $p = 0,89$ ], o mesmo sendo observado com as associações de etanol com fluoxetina 10 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,67) = 2,23$   $p = 0,52$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 30,01$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,64) = 1,62$ ,  $p = 0,65$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,64) = 0,60$ ,  $p = 0,89$ ] ou com fluoxetina 1 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,71) = 3,46$   $p = 0,32$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,71) = 24,11$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,70) = 1,21$ ,  $p = 0,75$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,70) = 2,12$ ,  $p = 0,54$ ] que também mostraram redução significativa no comportamento em relação aos animais tratados somente com fluoxetina. A associação etanol com paroxetina 5 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,65) = 4,30$   $p = 0,23$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 29,65$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,64) = 4,22$ ,  $p = 0,24$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,66) = 7,78$ ,  $p = 0,05$ ] ou paroxetina 1 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,69) = 1,63$   $p = 0,65$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,67) = 32,78$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,67) = 9,10$ ,  $p = 0,28$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,67) = 7,62$ ,  $p = 0,05$ ] também apresentaram redução significativa na avaliação aguda com relação aos animais tratados com salina ou paroxetina. Nos testes do 14° e 28° dias os grupos de tratamento etanol e associações apresentaram aumento nesse parâmetro mostrando perfil semelhante aos animais controle.

Os animais tratados com etanol ou com etanol associado a ISRS apresentaram na avaliação aguda redução no comportamento de *rearing* em relação à avaliação sem droga. A partir do teste do 14° dia foi observado um aumento significativo no parâmetro analisado com relações as avaliações sem droga e agudo, que permaneceu até o final do tratamento. A administração de salina, fluoxetina ou paroxetina provocou uma diminuição deste comportamento no teste agudo em relação ao basal, permanecendo constante a partir de então [ $\chi^2_{\text{S}}(3,16) = 16,18$ ,  $p < 0,05$ ;  $\chi^2_{\text{E}}(3,16) = 24,94$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{F10}}(3,13) = 15,86$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{F1}}(3,17) = 11,21$ ,  $p < 0,05$ ;  $\chi^2_{\text{P5}}(3,14) = 23,65$ ,  $p < 0,005$ ;  $\chi^2_{\text{P1}}(3,13) = 17,04$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{EF10}}(3,14) = 26,11$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{E+F1}}(3,16) = 35,71$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{EP5}}(3,13) = 26,66$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{E+P1}}(3,17) = 43,47$ ,  $p < 0,001$ ].

Na avaliação do tempo em que o animal permaneceu imóvel, ou

*freezing*, no campo aberto (Tabela 3) não foi observada diferença significativa ao longo das ocasiões de teste em nenhum dos grupos de tratamento ( $p = 1,00$ ) e nem entre os tratamentos ( $p = 1,00$ ).

Quanto ao comportamento de autolimpeza ou *grooming* no campo aberto (Tabela 3) os animais tratados com etanol não apresentaram diferenças significativas em relação aos animais tratados com salina [ $H_{\text{basal}}(3,65) = 2,17$ ,  $p = 0,53$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,64) = 2,44$ ,  $p = 0,48$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,65) = 8,08$ ,  $p < 0,05$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,63) = 2,82$ ,  $p = 0,42$ ]. O grupo de tratamento etanol + fluoxetina 10 mg/kg apresentou somente na terceira avaliação uma redução no comportamento quando comparados aos controles salina, etanol e fluoxetina [ $H_{\text{basal}}(3,65) = 2,17$ ,  $p = 0,53$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,64) = 2,44$ ,  $p = 0,48$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,65) = 8,08$ ,  $p < 0,05$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,63) = 2,82$ ,  $p = 0,42$ ]. Os animais tratados com etanol + fluoxetina 1 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,69) = 1,36$ ,  $p = 0,71$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,69) = 1,84$ ,  $p = 0,60$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,69) = 3,31$ ,  $p = 0,34$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,69) = 7,84$ ,  $p = 0,05$ ], paroxetina 5 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,65) = 2,52$ ,  $p = 0,47$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,64) = 2,66$ ,  $p = 0,44$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,66) = 3,00$ ,  $p = 0,39$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,63) = 1,24$ ,  $p = 0,74$ ] ou paroxetina 1 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,68) = 5,16$ ,  $p = 0,16$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,66) = 6,42$ ,  $p = 0,09$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,64) = 3,25$ ,  $p = 0,35$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,66) = 5,22$ ,  $p = 0,16$ ] não apresentaram diferenças significativas em relação aos animais controle.

Ao longo do tratamento somente o grupo de animais tratados com fluoxetina 10 mg/kg apresentou nas avaliações do 14º e 28º dias um aumento significativo dos valores do comportamento de autolimpeza quando comparado à avaliação aguda. Os outros grupos de tratamento não apresentaram diferenças significativas no comportamento de *grooming* ao longo do tratamento [ $\chi^2_{\text{S}}(3,16) = 2,05$ ,  $p = 0,56$ ;  $\chi^2_{\text{E}}(3,14) = 0,85$ ,  $p = 0,83$ ;  $\chi^2_{\text{F10}}(3,13) = 7,39$ ,  $p < 0,05$ ;  $\chi^2_{\text{F1}}(3,15) = 4,90$ ,  $p = 0,18$ ;  $\chi^2_{\text{P5}}(3,12) = 2,20$ ,  $p = 0,53$ ;  $\chi^2_{\text{P1}}(3,14) = 8,12$ ,  $p = 0,06$ ;  $\chi^2_{\text{E+F10}}(3,12) = 4,58$ ,  $p = 0,20$ ;  $\chi^2_{\text{E+F1}}(3,17) = 2,51$ ,  $p = 0,47$ ;  $\chi^2_{\text{E+P5}}(3,14) = 2,58$ ,  $p = 0,46$ ;  $\chi^2_{\text{E+P1}}(3,15) = 3,94$ ,  $p = 0,26$ ].

O grupo de animais tratado com etanol apresentou uma redução no número de *rearings* na caixa de movimentação espontânea (Tabela 4) na avaliação aguda com relação aos animais salina. A partir do 14º dia de tratamento esse comportamento estava significativamente aumentado em relação aos animais salina [ $H_{\text{basal}}(3,67) = 0,71$ ,  $p = 0,99$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 23,43$ ,

$p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,64) = 21,49$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,65) = 12,68$ ,  $p < 0,05$ ]. O tratamento agudo com a associação etanol + fluoxetina 10 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,67) = 0,71$   $p = 0,99$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 23,43$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,64) = 21,49$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,65) = 12,68$ ,  $p < 0,05$ ] causou uma diminuição significativa no comportamento de *rearing* em relação aos controles salina e fluoxetina. No teste do 14º dia houve um aumento no parâmetro analisado com relação aos grupos salina e fluoxetina e no teste do 28º dia somente em relação ao grupo salina. A associação etanol + paroxetina 5 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,65) = 3,10$   $p = 0,37$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,66) = 20,69$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,64) = 18,74$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,64) = 19,23$ ,  $p < 0,001$ ] causou uma diminuição significativa no comportamento de *rearing* em relação aos controles salina e paroxetina. Nos testes do 14º e 28º dias houve um aumento no parâmetro analisado com relação aos grupos salina e paroxetina. Etanol associado a fluoxetina 1 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,66) = 1,05$   $p = 0,55$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,71) = 11,65$ ,  $p < 0,05$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,70) = 9,69$ ,  $p < 0,05$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,69) = 4,84$ ,  $p = 0,18$ ] ou paroxetina 1 mg/kg [ $H_{\text{basal}}(3,62) = 1,16$   $p = 0,76$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,67) = 32,90$ ,  $p < 0,001$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,68) = 7,29$ ,  $p = 0,07$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,68) = 3,40$ ,  $p = 0,33$ ] mostrou um comportamento de *rearing* na caixa de movimentação espontânea na avaliação aguda significativamente menor que os animais tratados com salina e fluoxetina ou paroxetina, respectivamente. A partir do teste do 14º dia não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de tratamento

Os animais tratados com etanol ou associações apresentaram redução significativa no comportamento de *rearing* na avaliação aguda em relação à avaliação sem droga. No 14º e 28º dias de teste esse comportamento estava aumentado com relação à avaliação aguda [ $\chi^2_{\text{E}}(3,15) = 23,73$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{E+F10}}(3,14) = 23,57$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{E+F1}}(3,17) = 19,89$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{E+P5}}(3,14) = 21,80$ ,  $p < 0,001$ ;  $\chi^2_{\text{E+P1}}(3,15) = 31,50$ ,  $p < 0,001$ ].

Tabela 4 - Teste de atividade locomotora na caixa de movimentação espontânea para as doses de fluoxetina e paroxetina e suas associações com etanol

Variável	Ocasião	S	E	F1	F10	P1	P5	E + F1	E + F10	E + P1	E + P5
<i>Rearing</i>	Sem droga	10 ± 7	9,5 ± 7	20 ± 4	9,5 ± 9	14 ± 10	9 ± 8,5	15 ± 7	9 ± 10	12,5 ± 5,5	11 ± 4
	Agudo	5 ± 12	0 ± 1 <sup>b*f</sup>	7 ± 12 <sup>b</sup>	3 ± 7 <sup>b</sup>	7 ± 6,5 <sup>b</sup>	3,5 ± 7 <sup>b</sup>	3 ± 7,5 <sup>b*f</sup>	0 ± 0	0 ± 0 <sup>b*e<p< sup=""></p<></sup>	0 ± 2 <sup>b*p</sup>
	14 dias	4 ± 5,5 <sup>b</sup>	11 ± 8 <sup>a*</sup>	5 ± 7 <sup>b</sup>	7 ± 6 <sup>b</sup>	4 ± 12 <sup>b</sup>	6 ± 8 <sup>b</sup>	9 ± 12,5 <sup>a</sup>	10 ± 7 <sup>a*f</sup>	7 ± 11 <sup>ba</sup>	17 ± 21 <sup>a*p</sup>
	28 dias	3,5 ± 4 <sup>b</sup>	8,5 ± 9 <sup>a*</sup>	4 ± 9,5 <sup>b</sup>	6,5 ± 15 <sup>a*</sup>	7 ± 12 <sup>b</sup>	1 ± 4 <sup>b<sup>14</sup></sup>	9 ± 10,5 <sup>ba</sup>	13 ± 13 <sup>a*</sup>	5 ± 10 <sup>ba</sup>	12 ± 14 <sup>a*p</sup>
<i>Freezing</i>	Sem droga	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Agudo	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	14 dias	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	28 dias	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
<i>Grooming</i>	Sem droga	7,5 ± 5	8 ± 10	6 ± 9	9 ± 6	5 ± 2	8 ± 6	3 ± 4	7 ± 9,5	4 ± 3	9 ± 5
	Agudo	9 ± 9	13,5 ± 12 <sup>a</sup>	6 ± 3	9 ± 12	5 ± 5	6 ± 5	9 ± 5,5 <sup>b</sup>	4 ± 10	11 ± 11 <sup>b</sup>	12 ± 21
	14 dias	9 ± 6	12 ± 8	7 ± 5	7 ± 5	7 ± 4	9,5 ± 8,5	7 ± 6,5 <sup>b</sup>	8 ± 7	8 ± 5 <sup>b</sup>	7 ± 11
	28 dias	8 ± 6	9 ± 6 <sup>a<sup>14</sup></sup>	8 ± 6	6 ± 13	7 ± 8	7 ± 8	8 ± 10,5 <sup>b</sup>	4 ± 10	10,5 ± 8 <sup>b</sup>	6 ± 9

Os dados apresentados são mediana ± interquartil das variáveis obtidas dos animais tratados na caixa de movimentação espontânea.

\* difere do grupo salina, e difere do etanol, f difere da fluoxetina, p difere da paroxetina (Kruskal Wallis seguido pelo teste "U" de Mann Whitney,  $p < 0,05$ ). b difere do teste sem droga, a difere do teste agudo, 14 difere do teste do 14º dia (Friedman seguido pelo teste de Wilcoxon,  $p < 0,05$ ).

A administração de salina [ $\chi^2(3,16) = 10,10$ ,  $p < 0,05$ ], fluoxetina 1 mg/kg [ $\chi^2(3,13) = 19,67$ ,  $p < 0,001$ ] ou paroxetina 1 mg/kg [ $\chi^2(3,14) = 19,55$ ,  $p < 0,001$ ] provocou uma diminuição do *rearing* no teste agudo em relação ao basal, permanecendo constante a partir de então. Os animais tratados com fluoxetina 10 mg/kg [ $\chi^2(3,14) = 10,83$ ,  $p < 0,05$ ] apresentaram redução no parâmetro analisado na avaliação aguda com relação ao teste sem droga, a partir do 14º dia houve um aumento no comportamento analisado, sendo observado um aumento significativo no teste do 28º dia em relação à avaliação aguda. O grupo paroxetina 5 mg/kg também apresentou redução no número de *rearings* após os 28 dias de tratamento, sendo que na última avaliação estava menor que as avaliações sem droga e 14 dias [ $\chi^2(3,14) = 15,38$ ,  $p < 0,05$ ].

Na avaliação do tempo em que o animal permaneceu imóvel ou *freezing* na caixa de movimentação espontânea (Tabela 4) não foi observada diferença significativa ao longo das ocasiões de teste em nenhum dos grupos de tratamento ( $p = 1,00$ ) e nem entre os tratamentos ( $p = 1,00$ ).

Com relação ao comportamento de autolimpeza ou *grooming* na caixa de movimentação espontânea (Tabela 4) os grupos de animais tratados com etanol ou suas associações com os ISRS não apresentaram diferenças significativas em relação aos seus respectivos controles [etanol + fluoxetina 10 mg/kg:  $H_{\text{basal}}(3,66) = 1,13$   $p = 0,76$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 6,95$ ,  $p = 0,09$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,65) = 4,80$ ,  $p = 0,18$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,65) = 6,02$ ,  $p = 0,11$ ; etanol + fluoxetina 1 mg/kg  $H_{\text{basal}}(3,70) = 1,05$   $p = 0,55$ ,  $H_{\text{agudo}}(3,71) = 10,65$ ,  $p = 0,08$ ,  $H_{14 \text{ dias}}(3,70) = 0,81$ ,  $p = 0,84$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,69) = 6,35$ ,  $p = 0,09$ ; etanol + paroxetina 5 mg/kg:  $H_{\text{basal}}(3,65) = 0,29$   $p = 0,96$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 8,44$ ,  $p = 0,07$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,67) = 0,80$ ,  $p = 0,84$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,63) = 2,78$ ,  $p = 0,42$ ; etanol + paroxetina 1 mg/kg.  $H_{\text{basal}}(3,68) = 4,49$   $p = 0,21$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,67) = 4,66$ ,  $p = 0,20$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,68) = 0,65$ ,  $p = 0,88$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,66) = 6,85$ ,  $p = 0,08$ ].

O grupo de animais tratados com etanol apresentou aumento no *grooming* na avaliação aguda quando comparada à avaliação sem droga e uma redução do comportamento após 28 dias de tratamento quando comparado à avaliação aguda e ao 14º dia [ $\chi^2(3,15) = 9,69$ ,  $p < 0,05$ ] Os tratamentos etanol + fluoxetina 10 mg/kg [ $\chi^2(3,13) = 5,05$ ,  $p = 0,06$ ] e etanol

+ paroxetina 5 mg/kg [ $\chi^2(3,12) = 6,75, p = 0,08$ ] não alteraram significativamente o comportamento de *grooming* ao longo do tratamento, o mesmo sendo observado com os animais que receberam salina [ $\chi^2(3,16) = 1,77, p = 0,62$ ], fluoxetina 10 mg/kg [ $\chi^2(3,14) = 5,75, p = 0,06$ ], fluoxetina 1 mg/kg [ $\chi^2(3,15) = 3,12, p = 0,37$ ], paroxetina 5 mg/kg [ $\chi^2(3,13) = 4,15, p = 0,37$ ] e paroxetina 1 mg/kg [ $\chi^2(3,14) = 5,56, p = 0,13$ ]. Somente os animais tratados com etanol + fluoxetina 1 mg/kg [ $\chi^2(3,17) = 23,11, p < 0,001$ ] ou paroxetina 1 mg/kg [ $\chi^2(3,16) = 14,66, p < 0,05$ ] apresentaram agudamente aumento significativo no comportamento de grooming em relação à avaliação sem droga, comportamento que também foi observado nas outras ocasiões de teste.

Na tabela 5 pode-se observar o tempo de latência dos animais para sair da área central do labirinto em cruz elevado. Somente os animais tratados com fluoxetina 1 mg/kg ou etanol + paroxetina 1 mg/kg não apresentaram diferenças significativas ao longo do tratamento. Os outros tratamentos causaram queda abrupta no tempo de latência na segunda exposição ao teste (administração aguda), permanecendo com os mesmos valores nos testes do 14º e 28º dias [ $\chi^2_s(3,15) = 15,04, p < 0,05$ ;  $\chi^2_E(3,17) = 20,48, p < 0,001$ ;  $\chi^2_{F10}(3,14) = 9,45, p < 0,05$ ;  $\chi^2_{F1}(3,13) = 1,77, p = 0,62$ ;  $\chi^2_{P5}(3,11) = 16,28, p < 0,05$ ;  $\chi^2_{P1}(3,14) = 18,05, p = 0,05$ ;  $\chi^2_{E+F10}(3,12) = 13,11, p < 0,05$ ;  $\chi^2_{E+F1}(3,19) = 9,51, p < 0,05$ ;  $\chi^2_{E+P5}(3,12) = 15,0, p < 0,05$ ;  $\chi^2_{E+P1}(3,16) = 6,07, p = 0,11$ ].

Diferenças entre tratamentos em relação ao tempo de latência quando só foram observadas no teste do 28º dia, quando os animais tratados com etanol associado com fluoxetina 10 mg/kg ou fluoxetina 1 mg/kg ou paroxetina 5 mg/kg apresentaram um menor tempo de latência que os animais que receberam somente ISRS [etanol + fluoxetina 10 mg/kg:  $H_{\text{basal}}(3,64) = 2,05, p = 0,56$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,65) = 1,81, p = 0,61$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,65) = 3,18, p = 0,36$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,66) = 10,40, p < 0,05$ ; etanol + fluoxetina 1 mg/kg:  $H_{\text{basal}}(3,68) = 4,65, p = 0,20$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,70) = 2,35, p = 0,50$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,69) = 6,11, p = 0,08$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,71) = 14,60, p < 0,001$ ; etanol + paroxetina 5 mg/kg:  $H_{\text{basal}}(3,63) = 7,46, p = 0,06$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,66) = 1,28, p = 0,73$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,65) = 0,80, p = 0,84$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,65) = 10,85, p < 0,05$ ; etanol + paroxetina 1 mg/kg:

$H_{\text{basal}}(3,66) = 2,15$   $p = 0,54$ ;  $H_{\text{agudo}}(3,68) = 4,34$ ,  $p = 0,22$ ;  $H_{14 \text{ dias}}(3,67) = 6,72$ ,  $p = 0,08$ ;  $H_{28 \text{ dias}}(3,66) = 7,65$ ,  $p = 0,09$ ].

Com relação ao número de entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado (Tabela 5) somente os animais tratados com etanol + fluoxetina 10 mg/kg apresentaram aumento significativo no parâmetro analisado em relação à avaliação sem droga. Os outros grupos de tratamento não apresentaram diferenças ao longo do tratamento [ $F_S(3,36) = 0,78$ ,  $p = 0,50$ ;  $F_E(3,42) = 1,39$ ,  $p = 0,25$ ;  $F_{E+F10}(3,39) = 6,16$ ,  $p < 0,05$ ;  $F_{E+F1}(3,51) = 1,43$ ,  $p = 0,25$ ;  $F_{E+P5}(3,39) = 0,77$ ,  $p = 0,51$ ;  $F_{E+P1}(3,48) = 1,89$ ,  $p = 0,31$ ;  $F_{F10}(3,42) = 0,96$ ,  $p = 0,41$ ;  $F_{F1}(3,45) = 0,17$ ,  $p = 0,91$ ;  $F_{P5}(3,39) = 0,21$ ,  $p = 0,88$ ;  $F_{P1}(3,45) = 0,81$ ,  $p = 0,48$ ].

Os animais tratados com etanol + fluoxetina apresentaram aumento no parâmetro analisado a partir da avaliação do 14º dia quando comparado aos controles salina, etanol e fluoxetina. Os demais grupos não apresentaram diferenças significativas entre tratamentos [etanol + fluoxetina 10 mg/kg:  $F_{\text{basal}}(3,60) = 0,25$   $p = 0,85$ ;  $F_{\text{agudo}}(3,63) = 1,00$ ,  $p = 0,39$ ;  $F_{14 \text{ dias}}(3,61) = 5,41$ ,  $p < 0,05$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,60) = 5,41$ ,  $p < 0,05$ ; etanol + fluoxetina 1 mg/kg:  $F_{\text{basal}}(3,68) = 0,13$ ,  $p = 0,94$ ;  $F_{\text{agudo}}(3,66) = 0,43$ ,  $p = 0,73$ ;  $F_{14 \text{ dias}}(3,67) = 3,61$ ,  $p = 0,08$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,66) = 2,03$ ,  $p = 0,12$ ; etanol + paroxetina 5 mg/kg:  $F_{\text{basal}}(3,61) = 1,58$   $p = 0,20$ ;  $F_{\text{agudo}}(3,61) = 3,28$ ,  $p = 0,07$ ;  $F_{14 \text{ dias}}(3,61) = 1,51$ ,  $p = 0,22$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,60) = 3,57$ ,  $p = 0,08$ ; etanol + paroxetina 1 mg/kg:  $F_{\text{basal}}(3,65) = 1,84$   $p = 0,15$ ;  $F_{\text{agudo}}(3,63) = 1,61$ ,  $p = 0,19$ ;  $F_{14 \text{ dias}}(3,64) = 2,29$ ,  $p = 0,09$ ,  $F_{28 \text{ dias}}(3,64) = 0,85$ ,  $p = 0,46$ ]

Tabela 5 - Número de entradas nos braços fechados e tempo de latência no centro do labirinto em cruz elevado com as diversas doses de fluoxetina, paroxetina e suas associações com etanol.

Variável	Ocasião	S	E	F1	F10	P1	P5	E + F1	E + F10	E + P1	E + P5
Latência <sup>1</sup>	Sem droga	6 ± 9	3 ± 8	2 ± 3	4 ± 5	3 ± 4	2,5 ± 1	2 ± 2	5 ± 6	1 ± 3	7 ± 15
	Agudo	1 ± 2 <sup>b</sup>	0 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 1	1 ± 2 <sup>b</sup>	1,5 ± 1,5 <sup>b</sup>	0 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 3,5 <sup>b</sup>	0 ± 4 <sup>b</sup>	1 ± 2	0 ± 2 <sup>b</sup>
	14 dias	1 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 1,5	2 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 1 <sup>b</sup>	1 ± 2 <sup>b</sup>	0 ± 1 <sup>b</sup>	0 ± 2 <sup>b</sup>	0 ± 1	0 ± 0 <sup>b</sup>
	28 dias	1 ± 2 <sup>b</sup>	0 ± 1 <sup>b</sup>	2 ± 2	2 ± 2 <sup>b</sup>	1 ± 2 <sup>b</sup>	2 ± 2 <sup>b</sup>	0 ± 1 <sup>b f</sup>	0,5 ± 1,5 <sup>b f</sup>	0 ± 1	0 ± 1 <sup>b p</sup>
Número de entradas nos braços fechados <sup>2</sup>	Sem droga	5 ± 0,5	6 ± 0,5	5 ± 0,6	5 ± 0,5	4 ± 0,7	4 ± 0,5	5 ± 0,5	5 ± 0,4	5 ± 0,3	6 ± 0,6
	Agudo	4 ± 0,6	4 ± 0,9	5 ± 0,6	4 ± 0,5	4 ± 0,4	4 ± 0,6	6 ± 0,8	5 ± 1,0	8 ± 1,4	8 ± 1,2
	14 dias	5 ± 0,6	7 ± 1,1	5 ± 0,5	5 ± 0,8	5 ± 0,2	5 ± 0,9	9 ± 1,3	10 ± 0,9 <sup>a* e f</sup>	9 ± 1,4	8 ± 1,6
	28 dias	5 ± 0,7	5 ± 0,9	5 ± 0,7	4 ± 0,7	5 ± 0,2	5 ± 0,7	8 ± 1,1	10 ± 1,6 <sup>a* e f</sup>	7 ± 1,5	9 ± 1,7

Os dados representam média ± erro padrão ou mediana ± interquartil das variáveis indicadas

<sup>1</sup> f difere do tratamento fluoxetina, p difere do tratamento paroxetina (Kruskal Wallis seguido pelo teste "U" de Mann Whitney, p < 0,05) b difere do teste sem droga (Friedman seguido pelo teste de Wilcoxon, p < 0,05).

<sup>2</sup> a difere do tratamento agudo, \* difere do tratamento salina, e difere do tratamento etanol, f difere do grupo tratamento fluoxetina (ANOVA, seguida de teste de Newman-Keuls, p < 0,05).

#### 5.4 AVALIAÇÃO DA CO-ADMINISTRAÇÃO DE FLUOXETINA SOBRE OS EFEITOS ANSIOLÍTICO E ESTIMULANTE DO ETANOL: TRATAMENTO CRÔNICO 42 DIAS

##### **Efeito estimulante**

No teste agudo, os animais tratados com etanol (Figura 16-A) apresentaram no campo aberto um aumento significativo na atividade locomotora a partir do teste do 14° dia em relação ao grupo salina e avaliação sem droga. No teste do 42° dia foi observada uma redução significativa no comportamento locomotor desse grupo de animais em relação às duas últimas avaliações [ $F(4,44) = 4,96, p < 0,001$ ;  $F_{14 \text{ dias}}(3,50) = 7,14, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,50) = 35,73, p < 0,001$ ;  $F_{42 \text{ dias}}(3,35) = 5,51, p < 0,05$ ]. Na caixa de movimentação espontânea (Figura 16-B) esse aumento significativo foi observado a partir da avaliação aguda em relação ao grupo salina [ $F(3,50) = 4,71, p < 0,05$ ] e ao teste sem droga [ $F(4,44) = 9,17, p < 0,001$ ]. No teste do 42° dia também foi observada uma redução nesse parâmetro em relação às avaliações aguda, 14 e 28 dias; [ $F_{\text{agudo}}(3,50) = 4,72, p < 0,001$ ;  $F_{14 \text{ dias}}(3,50) = 29,50, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,49) = 36,74, p < 0,001$ ;  $F_{42 \text{ dias}}(3,35) = 5,51, p < 0,05$ ]. Não foram observadas diferenças significativas no número total de entradas no labirinto em cruz elevado (Figura 16-C) ao longo do tratamento e nem em relação ao grupo salina [ $F(4,44) = 2,17, p = 0,09$ ].

Agudamente a associação etanol + fluoxetina 10 mg/kg (Figura 16-A) produziu aumento significativo na atividade locomotora no campo aberto com relação aos grupos controles e ao teste sem droga [ $F(4,16) = 7,31, p < 0,05$ ]. Esse comportamento foi mantido até o último teste [ $F_{\text{agudo}}(3,45) = 11,58, p < 0,001$ ;  $F_{14 \text{ dias}}(3,45) = 11,45, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,44) = 12,93, p < 0,001$ ;  $F_{42 \text{ dias}}(3,33) = 10,12, p < 0,001$ ]. O grupo de animais que recebeu a partir do teste do 28° dia a dose de fluoxetina 20 mg/kg associada ao etanol apresentou um aumento significativo no teste do 42° dia na ambulação em relação à avaliação sem droga [ $F(4,16) = 3,77, p < 0,05$ ] e aos animais que receberam salina, etanol, etanol + fluoxetina 10 mg/kg e fluoxetina 20 mg/kg [ $F(5,42) = 17,82, p < 0,001$ ].

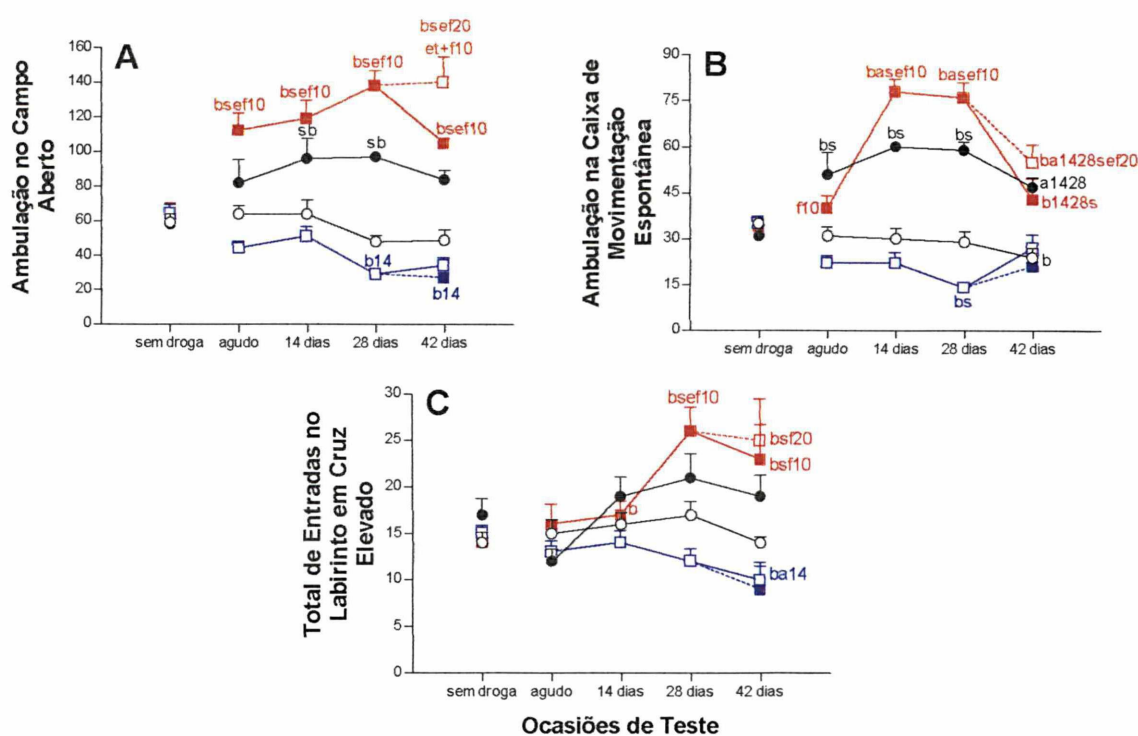


Figura 16. Efeitos da associação fluoxetina 10 mg/kg e etanol após 42 dias de tratamento nos testes do Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado

Efeitos comportamentais em camundongos nas cinco diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14, 28 e 42 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: etanol 2 g/kg (●), etanol + fluoxetina 10 mg/kg (■), etanol + fluoxetina 20 mg/kg (□), fluoxetina 10 mg/kg (○), fluoxetina 20 mg/kg (■) e salina (○). A – Ambulação no campo aberto (número de áreas invadidos). B – Ambulação na caixa de movimentação espontânea (número transições entre espaços demarcados). C – Total de entradas no labirinto em cruz elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina; f1 fluoxetina 1 mg/kg; f10 fluoxetina 10 mg/kg; f20 fluoxetina 20 mg/kg; e etanol; b teste sem droga; a teste agudo; 14 teste 14° dia; 28 teste do 28° dia (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

Os animais tratados com etanol + fluoxetina 1 mg/kg (Figura 17–A) apresentaram um aumento significativo na ambulação no campo aberto somente no teste do 14° dia em relação aos animais tratados com fluoxetina 1 mg/kg [ $F(3,50) = 7,14$ ,  $p < 0,001$ ]. No teste do 28° dia esse aumento também foi significativo em relação aos animais que receberam salina [ $F(3,50) = 35,73$ ,  $p < 0,001$ ]. Após 42 dias de tratamento a ambulação no campo aberto foi significativamente maior que a dos animais que receberam

somente fluoxetina [ $F(3,35) = 5,51, p < 0,05$ ]. Não foram observadas diferenças significativas na ambulação ao longo do tratamento com etanol + fluoxetina 1 mg/kg [ $F(4,24) = 1,38, p = 0,27$ ]. O grupo de animais que recebeu a partir do teste do 28º dia a dose de fluoxetina 10 mg/kg associada ao etanol não foi diferente da avaliação anterior [ $F(4,16) = 2,12, p = 0,12$ ], mas apresentou um aumento significativo na ambulação em relação aos animais tratados com salina, etanol e fluoxetina 10 mg/kg [ $F(3,33) = 10,45, p < 0,001$ ].

Na caixa de movimentação espontânea agudamente os animais tratados com etanol + fluoxetina 10 mg/kg (Figura 16–B) apresentaram aumento significativo na ambulação somente em relação aos animais que receberam fluoxetina 10 mg/kg [ $F(3,45) = 8,47, p < 0,001$ ]. Nos testes do 14º e 28º dias a ambulação desses animais estava significativamente maior que as avaliações anteriores [ $F(4,16) = 31,75, p < 0,001$ ] e em relação aos animais que receberam salina, etanol e fluoxetina 10 mg/kg [ $F_{14 \text{ dias}}(3,45) = 61,85, p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,47) = 78,88, p < 0,001$ ]. Após 42 dias de tratamento o comportamento de ambulação dos animais estava significativamente menor em relação às duas últimas avaliações e em relação ao grupo salina [ $F(3,33) = 6,40, p < 0,05$ ]. O grupo de animais que recebeu a partir do teste do 28º dia a dose de fluoxetina 20 mg/kg associada ao etanol mostrou uma redução significativa na ambulação em relação à avaliação do 28º dia de teste [ $F(4,20) = 34,70, p < 0,001$ ], mas significativamente maior que os animais salina, etanol e fluoxetina 20 mg/kg [ $F(5,42) = 8,78, p < 0,001$ ].

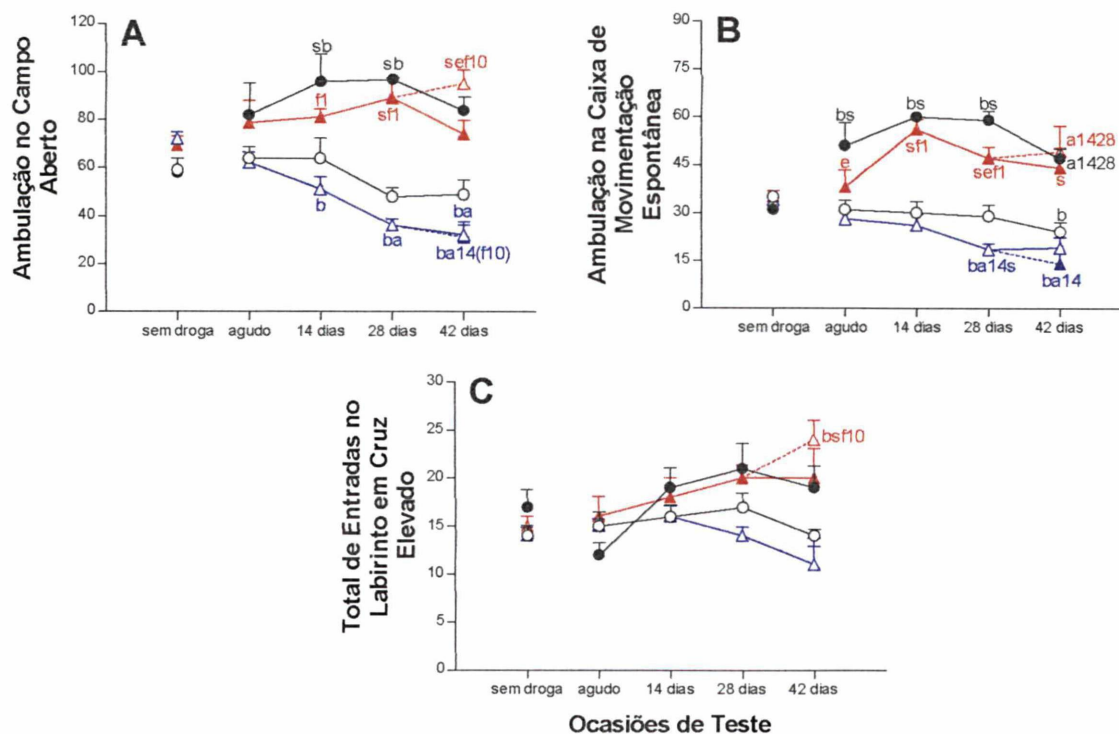


Figura 17. Efeitos da associação fluoxetina 1 mg/kg e etanol após 42 dias de tratamento no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado

Efeitos comportamentais em camundongos nas cinco diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14, 28 e 42 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados foram: etanol 2 g/kg (●), etanol + fluoxetina 1 mg/kg (▲), etanol + fluoxetina 10 mg/kg (△), fluoxetina 1 mg/kg (◻), fluoxetina 10 mg/kg (◼) e salina (○). A – Ambulação no campo aberto (número de áreas invadidos). B – Ambulação na caixa de movimentação espontânea (número transições entre espaços demarcados). C – Total de entradas no labirinto em cruz elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina; f1 fluoxetina 1 mg/kg; f10 fluoxetina 10 mg/kg; f20 fluoxetina 20 mg/kg; e etanol; b teste sem droga; a teste agudo; 14 teste 14° dia; 28 teste do 28° dia (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

Os animais tratados com etanol + fluoxetina 1 mg/kg (Figura 17–B) apresentaram agudamente uma redução significativa na ambulação na caixa de movimentação espontânea em relação aos animais que receberam etanol [ $F(3,50) = 4,71$ ,  $p < 0,05$ ]. Nos testes do 14° e 28 dias foi observado um aumento significativo na ambulação desses animais em relação aos animais tratados com salina e fluoxetina 1 mg/kg, mas no 28° dia a ambulação estava significativamente menor que os animais tratados com etanol [ $F_{14}$

dias(3,50) = 29,60,  $p < 0,001$ ;  $F_{28 \text{ dias}}(3,49) = 36,74$ ,  $p < 0,001$ ]. Após 42 dias de tratamento a ambulação no campo aberto foi significativamente maior que a dos animais que receberam salina [ $F(3,35) = 5,51$ ,  $p < 0,05$ ]. Não foram observadas diferenças significativas na ambulação ao longo do tratamento com etanol + fluoxetina 1 mg/kg [ $F(4,24) = 2,72$ ,  $p = 0,06$ ]. A ambulação dos animais que receberam a partir do teste do 28º dia a dose de fluoxetina 10 mg/kg associada ao etanol não apresentou diferenças significativas em relação à avaliação anterior [ $F(4,16) = 2,12$ ,  $p = 0,12$ ], mas apresentou um aumento significativo em relação aos animais tratados com salina e fluoxetina 10 mg/kg [ $F(5,46) = 9,28$ ,  $p < 0,001$ ].

A partir da terceira avaliação, os animais tratados com etanol + fluoxetina 10 mg/kg apresentaram um aumento significativo no número total de entradas no labirinto em cruz elevado (Figura 16-C) em relação à avaliação sem droga [ $F(4,16) = 41,66$ ,  $p < 0,05$ ]. Nos testes dos 28º e 42º dias foram observados aumentos significativos desse parâmetro em relação aos animais que receberam salina e fluoxetina 10 mg/kg. Além disso, no teste do 28º dia a ambulação também estava aumentada em relação aos animais tratados com etanol [ $F_{28 \text{ dias}}(3,45) = 8,46$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{42 \text{ dias}}(3,33) = 5,62$ ,  $p < 0,05$ ]. O aumento da dose de fluoxetina para 20 mg/kg não provocou alterações significativas na atividade locomotora no labirinto em cruz elevado em relação à avaliação anterior [ $F(4,16) = 3,60$ ,  $p < 0,07$ ], mas esse parâmetro estava aumentado em relação aos animais tratados com salina e fluoxetina 20 mg/kg [ $F(5,42) = 4,96$ ,  $p < 0,05$ ].

Nas cinco avaliações, a associação etanol + fluoxetina 1 mg/kg não apresentou diferenças significativas no número total de entradas (Figura 17-C) ao longo do tratamento [ $F(4,24) = 1,83$ ,  $p = 0,15$ ]. Somente no último teste foi observado um aumento significativo no parâmetro em relação aos animais que receberam fluoxetina 1 mg/kg [ $F_{42 \text{ dias}}(3,35) = 3,51$ ,  $p < 0,05$ ]. O aumento da dose de fluoxetina para 10 mg/kg não provocou alterações significativas na atividade locomotora no labirinto em cruz elevado em relação à avaliação anterior [ $F(4,16) = 3,60$ ,  $p < 0,07$ ], mas provocou um aumento significativo em relação aos animais tratados com salina e fluoxetina 10 mg/kg [ $F(5,42) = 4,96$ ,  $p < 0,05$ ].

Os animais tratados com fluoxetina 10 mg/kg apresentaram redução

significativa na ambulação no campo aberto (Figura 16–A) somente na avaliação do 28° dia em relação às avaliações sem droga e do 14° dia [ $F(4,28) = 5,43, p < 0,05$ ]. Não foram observadas diferenças entre esses animais e o animais tratados com salina. O aumento da dose de fluoxetina, nos últimos quatorze dias, para 20 mg/kg não provocou alterações no comportamento dos animais em relação à avaliação anterior [ $F(4,24) = 5,37, p = 0,67$ ] nem ao grupo controle.

Os animais tratados com fluoxetina 1 mg/kg (Figura 17-A) apresentaram redução significativa na ambulação somente no campo aberto na avaliação do dia 14 em relação ao teste sem droga. No teste do dia 28 essa redução na ambulação se manteve e também foi observada em relação ao teste agudo. Na última avaliação, a redução na ambulação foi significativa em relação às avaliações sem droga, aguda e do 14° dia [ $F(4,28) = 4,45, p < 0,05$ ]. Não foram observadas diferenças significativas na ambulação em comparação ao grupo salina. O aumento da dose de fluoxetina para 10 mg/kg não provocou alterações no comportamento dos animais em relação à avaliação anterior [ $F(4,24) = 5,37, p = 0,67$ ] nem ao grupo controle.

Os animais tratados com salina não apresentaram diferenças significativas ao longo do tratamento [ $F_{CA}(4,44) = 1,59, p = 0,19$ ;  $F_{CME}(4,44) = 2,73, p = 0,09$ ;  $F_{LCE}(4,44) = 0,81, p = 0,52$ ].

### Efeito ansiolítico

Os animais tratados com etanol agudamente apresentaram aumento significativo na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (Figura 18–A) em relação ao teste sem droga. A partir do teste do 14° dia foi observado aumento significativo em relação ao teste sem droga [ $F(4,44) = 7,20, p < 0,001$ ] e a partir do teste do 28° dia em relação ao grupo salina [ $F_{28 \text{ dias}}(3,50) = 9,18, p < 0,001$ ;  $F_{42 \text{ dias}}(3,35) = 17,41, p < 0,001$ ].

A partir do teste do 28° dia, fluoxetina 10 mg/kg associada ao etanol (Figura 18–A) provocou redução significativa no tempo de permanência nos braços abertos em relação aos animais tratados com etanol [ $F_{28 \text{ dias}}(3,45) = 16,17, p < 0,001$ ;  $F_{42 \text{ dias}}(3,33) = 8,64, p < 0,001$ ]. Não foram observadas diferenças significativas ao longo do tratamento com essa associação

[F(4,16) = 1,39,  $p = 0,28$ ]. O aumento da dose de fluoxetina a partir do 28° dia para 20 mg/kg não interferiu no comportamento dos animais [F(4,16) = 0,59,  $p = 0,67$ ], tendo sido observado um aumento significativo nesse parâmetro somente em relação ao grupo fluoxetina 20 mg/kg [F(5,43) = 14,43,  $p < 0,001$ ].

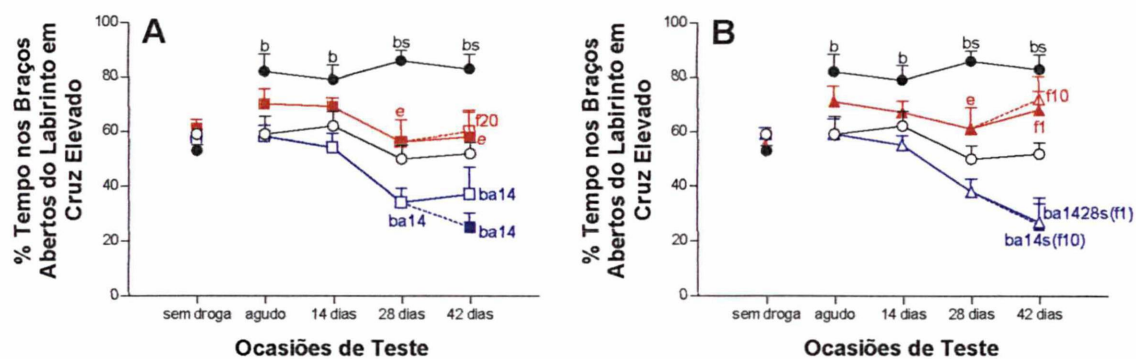


Figura 18. Efeitos da associação fluoxetina 1 ou 10 mg/kg e etanol após 42 dias de tratamento no Labirinto em Cruz Elevado

Efeitos comportamentais no tempo de permanência dos camundongos nos braços abertos do labirinto em cruz elevado nas cinco diferentes ocasiões de teste (sem droga, tratamento agudo e tratamento crônico 14, 28 e 42 dias de injeções diárias). Os tratamentos administrados em A foram: etanol 2 g/kg (●), etanol + fluoxetina 10 mg/kg (■), etanol + fluoxetina 20 mg/kg (□), fluoxetina 10 mg/kg (□), fluoxetina 20 mg/kg (■) e salina (○). Os tratamentos administrados em B foram: etanol 2 g/kg (●), etanol + fluoxetina 1 mg/kg (▲), etanol + fluoxetina 10 mg/kg (△), fluoxetina 1 mg/kg (▲), fluoxetina 10 mg/kg (△), e salina (○). Os dados representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina; f1 fluoxetina 1 mg/kg; f10 fluoxetina 10 mg/kg; f20 fluoxetina 20 mg/kg; e etanol; b teste sem droga; a teste agudo; 14 teste 14° dia (ANOVA duas vias seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

Fluoxetina 1 mg/kg associada ao etanol (Figura 18–B) provocou redução significativa na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado somente no teste do 28° dia em relação aos animais tratados com etanol [F(3,50) = 19,18,  $p < 0,001$ ]. No teste do 42° dia provocou um aumento significativo em relação ao grupo fluoxetina 1 mg/kg [F(3,35) = 17,41,  $p < 0,001$ ]. Não foram observadas diferenças significativas ao longo do tratamento com essa associação [F(4,24) = 0,29,  $p = 0,88$ ]. O aumento da dose de fluoxetina a partir do 28° dia para 10 mg/kg não

interferiu no comportamento dos animais [ $F(4,16) = 0,21, p = 0,93$ ], tendo sido observado um aumento no parâmetro analisado em relação aos animais tratados com fluoxetina 10 mg/kg [ $F(5,46) = 12,99, p < 0,001$ ]

A partir do teste do 28° dia, fluoxetina 10 mg/kg reduziu significativamente a porcentagem de tempo nos braços abertos em relação às avaliações sem droga, aguda e do 14° dia [ $F(4,28) = 3,47, p < 0,05$ ]. Não foram observadas diferenças entre esse tratamento e o grupo salina. O aumento da dose de fluoxetina a partir do 28° dia para 20 mg/kg, não interferiu no comportamento dos animais [ $F(4,24) = 3,47, p = 0,32$ ].

A administração de fluoxetina 1 mg/kg (Figura 18–B) somente provocou redução significativa na porcentagem de tempo nos braços abertos no teste do 42° dia em relação aos testes sem droga, agudo e 14 dias [ $F(4,28) = 4,25, p < 0,05$ ]. Essa redução também ocorreu em relação ao grupo salina. O aumento da dose de fluoxetina para 10 mg/kg não alterou significativamente o comportamento [ $F(4,28) = 3,23, p < 0,07$ ], mas esse grupo de tratamento apresentou redução no parâmetro analisado em relação aos animais tratados com salina [ $F(5,46) = 12,99, p < 0,001$ ].

Os animais tratados com salina não apresentaram diferenças significativas ao longo do tratamento [ $F(4,44) = 1,226, p = 0,29$ ].

## 5.5 AVALIAÇÃO DA CO-ADMINISTRAÇÃO DE L-TRIPTOFANO SOBRE OS EFEITOS ANISOLÍTICO E ESTIMULANTE DO ETANOL: TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO

### Efeitos estimulante e exploratório

Pode-se observar que o tratamento crônico com etanol aumentou significativamente os valores de ambulação no campo aberto (Figura 19-A) em relação ao salina. A associação etanol + L-triptofano reduziu significativamente a ambulação quando comparada à administração de etanol sozinho nas duas ocasiões de teste [ $F_{\text{agudo}}(3,44) = 3,14, p < 0,05$ ;  $F_{\text{crônico}}(3,44) = 4,93, p < 0,05$ ]. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos agudo e crônico para nenhum grupo [ $t_s(\text{gl}11) = 0,85, p = 0,93$ ;  $t_e(\text{gl}11) = -1,27, p = 0,23$ ;  $t_t(\text{gl}11) = 0,03, p = 0,97$ ;  $t_{e+t}(\text{gl}11) = -1,50, p = 0,16$ ].

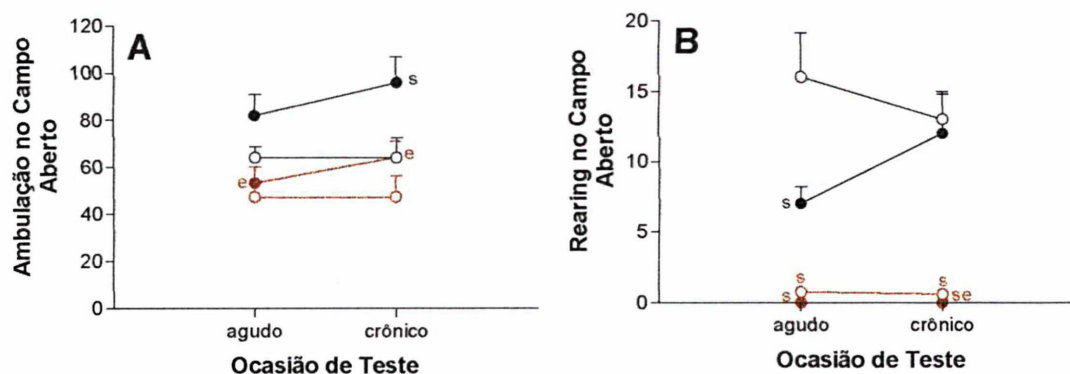


Figura 19. Efeitos da associação L-triptofano e etanol no Campo Aberto

Os dados representam a média  $\pm$  erro padrão das medidas comportamentais obtidas no campo aberto em duas ocasiões, após administração aguda e crônica (14 dias de tratamento) de: salina (○), etanol 2 g/kg (●), triptofano 100 mg/kg (◊) e etanol + triptofano (◐). A – Ambulação (número de quadrados invadidos). B – Rearing (número de vezes que o animal assume postura vertical). Símbolos representam diferenças significativas de:  $\underline{s}$  salina;  $\underline{t}$  triptofano;  $\underline{e}$  etanol (ANOVA uma via, teste de Newman Keuls ou Kruskal-Wallis, teste de Mann Witney;  $p \leq 0,05$ ).

Pode-se observar agudamente redução nos valores obtidos para o comportamento de levantar-se nas patas traseiras ou *rearing* (Figura 19–B) para os grupos tratados com L-triptofano, etanol e a associação em comparação ao salina [ $H(3,48) = 37,56, p < 0,001$ ]. Após o tratamento crônico, apenas os animais tratados com etanol reverteram essa redução [ $H(3,47) = 32,08, p < 0,001$ ]. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos agudo e crônico para nenhum grupo [ $z_s=0,22, p=0,82; z_e=1,21, p=0,22; z_t=0,40, p=0,68; z_{e+t}=0,00, p=0,00$ ].

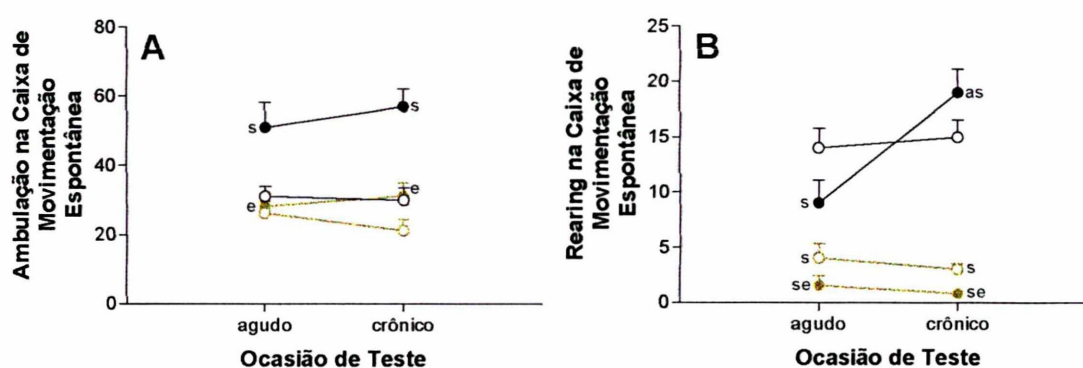


Figura 20. Efeitos da associação L-triptofano e etanol na Caixa de Movimentação Espontânea

Os dados representam a média  $\pm$  erro padrão das medidas comportamentais obtidas na caixa de movimentação espontânea em duas ocasiões, após administração aguda e crônica (14 dias de tratamento) de: salina (O), etanol 2 g/kg (●), triptofano 100 mg/kg (○) e etanol + triptofano (●). A – Ambulação (número de cruzamentos). B – Rearing (número de vezes que o animal assume postura vertical). Símbolos representam diferenças significativas de:  $\underline{s}$  salina;  $\underline{e}$  etanol (ANOVA uma via, teste de Newman Keuls ou Kruskal-Wallis, teste de Mann Witney;  $p \leq 0,05$ ), a teste agudo (Wilcoxon,  $p < 0,05$ ).

A figura 20–A mostra a ambulação na caixa de movimentação espontânea. Nas duas ocasiões de teste os animais tratados com etanol apresentaram maiores níveis de ambulação do que com salina. A associação com L-triptofano antagonizou esse aumento [ $F_{agudo}(3,44) = 5,97, p < 0,05; F_{crônico}(3,44) = 14,35, p < 0,001$ ]. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos agudo e crônico para nenhum grupo [ $t_s(gl11) = 0,19, p = 0,84; t_e(gl11) = -0,63, p = 0,53; t_t(gl11) = 1,26, p = 0,23; t_{e+t}(gl11) = -0,81, p = 0,43$ ].

A alteração do comportamento de *rearing* na caixa de movimentação espontânea causada pelos diferentes tratamentos foi semelhante àquela

observada no campo aberto (Figura 20–B) [ $H_{\text{agudo}}(3,47) = 24,03, p < 0,001$ ;  $H_{\text{crônico}}(3,48) = 35,91, p < 0,001$ ]. Somente os animais tratados com etanol apresentaram aumento no parâmetro analisado em relação à avaliação aguda [ $z_s = 0,47, p = 0,64$ ;  $z_e = 2,35, p < 0,05$ ;  $z_t = 1,42, p = 0,15$ ;  $z_{e+t} = 0,36, p = 0,71$ ].

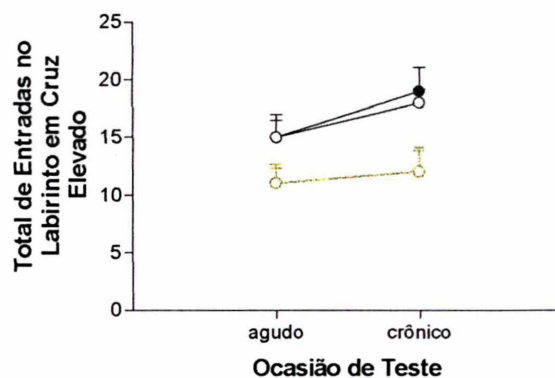


Figura 21. Efeitos da associação L-triptofano e etanol no Labirinto em Cruz Elevado

Os dados representam a média  $\pm$  erro padrão das medidas comportamentais obtidas no labirinto em cruz em duas ocasiões, após administração aguda e crônica (14 dias de tratamento) de: salina (○), etanol 2 g/kg (●), triptofano 100 mg/kg (◐) e etanol + triptofano (◑). Total de Entradas (total de entradas = braços abertos + braços fechados).

Pode-se observar na figura 21 os valores obtidos para o número total de entradas no labirinto em cruz elevado. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos agudo e crônico para nenhum grupo [ $t_s(\text{gl}11) = -2,63, p = 0,23$ ;  $t_e(\text{gl}11) = -1,85, p = 0,09$ ;  $t_t(\text{gl}11) = -1,05, p = 0,31$ ;  $t_{e+t}(\text{gl}11) = -0,68, p = 0,51$ ]. Entre tratamentos somente foi observada diferença entre os grupos etanol e L-triptofano [ $F_{\text{agudo}}(3,44) = 1,90, p = 0,14$ ;  $F_{\text{crônico}}(3,44) = 3,54, p < 0,05$ ].

## Efeito ansiolítico

Não foram encontradas diferenças significativas no tempo de latência para os animais saírem da área central do campo aberto (Figura 22–A) entre os tratamentos agudo e crônico para nenhum dos grupos [ $z_s = 0,93$ ,  $p = 0,35$ ;  $z_e = 0,28$ ,  $p = 0,78$ ;  $z_t = 0,67$ ,  $p = 0,50$ ;  $z_{e+t} = 1,47$ ,  $p = 0,14$ ]. Agudamente, o etanol diminuiu a latência para sair do centro do campo aberto em relação ao salina [ $H(3,41) = 9,74$ ,  $p < 0,05$ ].

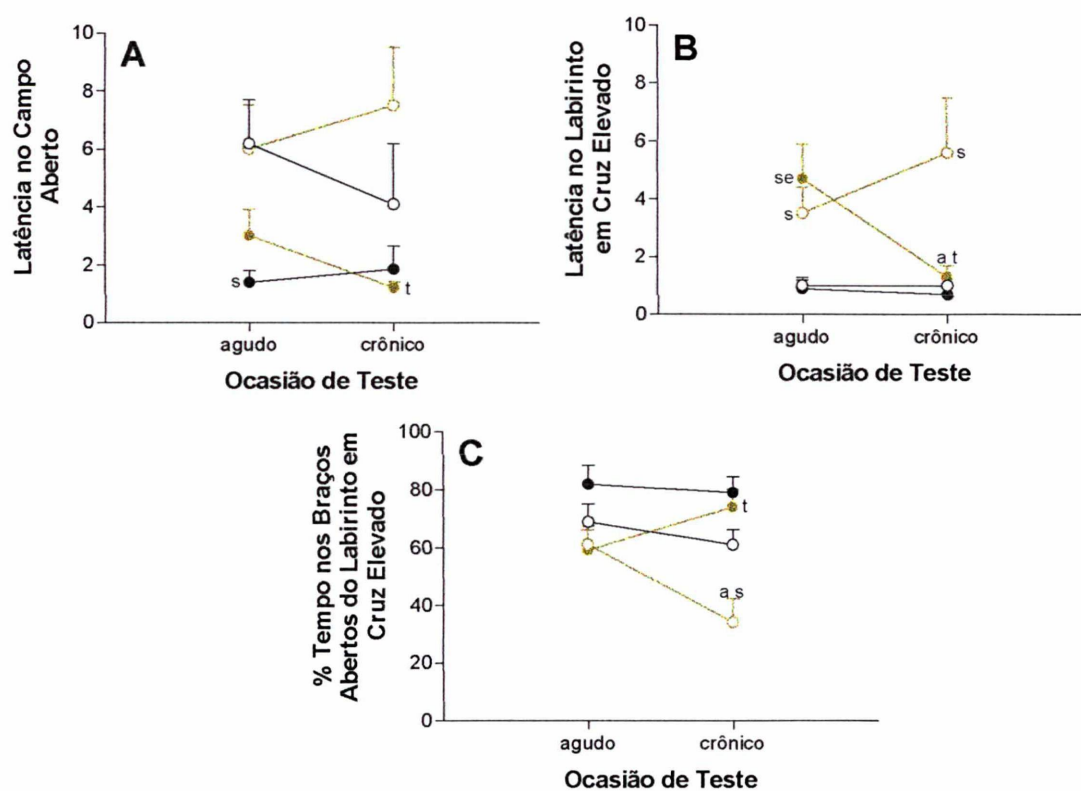


Figura 22. Efeitos da associação L-triptofano e etanol

Os dados representam a média  $\pm$  erro padrão das medidas comportamentais obtidas no campo aberto em duas ocasiões, após administração aguda e crônica (14 dias de tratamento) de: salina (○), etanol 2 g/kg (●), triptofano 100 mg/kg (◐) e etanol + triptofano (◑) A – latência no Campo Aberto (tempo para sair da área central) B – latência no Labirinto em Cruz Elevado (tempo para sair da área central) C – % Tempo nos braços abertos. Símbolos representam diferenças significativas de:  $\underline{s}$  salina;  $\underline{t}$  triptofano;  $\underline{e}$  etanol (ANOVA uma via, teste de Newman Keuls ou Kruskal-Wallis, teste de Mann Witney;  $p \leq 0,05$ ),  $\underline{a}$  teste agudo (teste “t” de Student ou Wilcoxon,  $p < 0,05$ ).

O tratamento com L-triptofano causou aumento não significativo na latência, sendo que quando foi administrado junto com etanol esse aumento

desapareceu atingindo significância com relação ao grupo L-triptofano [ $H(3,46) = 10,28, p < 0,05$ ]

Na figura 22-B está representado o tempo de latência para os animais saírem da área central do labirinto em cruz elevado. Pode-se observar que somente os animais tratados com etanol + L-triptofano apresentaram redução significativa na latência ao longo do tratamento [ $z_s=0,27, p=0,79$ ;  $z_e=0,00, p=0,00$ ;  $z_t=0,31, p=0,75$ ;  $z_{e+t}=2,75, p<0,05$ ]. O L-triptofano sozinho agudo ou crônico aumentou significativamente o tempo de latência em relação ao salina. Quando foi associado ao etanol, o L-triptofano agudamente aumentou a latência em relação ao salina e etanol, sendo essa diferença significativa, e cronicamente esse aumento desapareceu [ $H_{agudo}(3,48)=20,57, p<0,001$ ;  $H_{crônico}(3,47)=17,06, p<0,001$ ].

Agudamente, não foi observada diferença significativa entre os grupos de tratamento no tempo que os animais permaneceram nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (Figura 22–C) [ $F(3,44) = 2,63, p = 0,06$ ]. Cronicamente, o grupo que recebeu etanol + L-triptofano aumentou significativamente a porcentagem de tempo nos braços abertos comparado ao L-triptofano sozinho. O tratamento crônico com L-triptofano reduziu esse parâmetro com relação ao grupo salina [ $F(3,44) = 9,70, p < 0,001$ ] e à avaliação aguda [ $t_s(gl11) = 1,06, p = 0,31$ ;  $t_e(gl11) = 0,37, p = 0,71$ ;  $t_t(gl11) = 2,81, p < 0,05$ ;  $t_{e+t}(gl11) = -1,94, p = 0,08$ ].

## 5.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANSIOLÍTICO AGUDO DA FLUOXETINA E PAROXETINA

Na figura 23–A está representada a latência para sair da área central do campo aberto. Não foram observadas diferenças significativas entre os animais tratados com fluoxetina nas doses de 1, 10 e 20 mg/kg em relação aos controles. Os animais que receberam a dose de 40 mg/kg apresentaram um tempo significativamente maior de latência que todos os outros tratamentos, exceto os animais que receberam salina. Os animais que receberam anfetamina ou diazepam permaneceram menos tempo na área central que os animais que receberam salina [ $H(6,68) = 11,04, p < 0,05$ ]

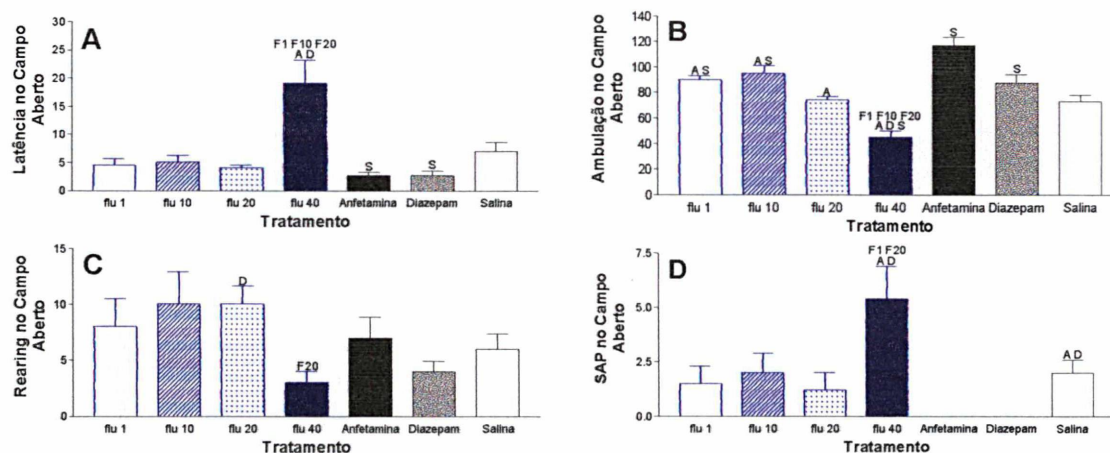


Figura 23. Efeitos ansiolíticos agudos da Fluoxetina no Campo Aberto

Efeitos das doses de fluoxetina: 1 mg/kg (□), 10 mg/kg (▨), 20 mg/kg (▤) ou 40 mg/kg (■), e das doses de anfetamina 2 mg/kg (■), diazepam 2 mg/kg (▤) e salina (□) sobre a ansiedade de camundongos expostos agudamente ao teste do campo aberto. A – latência (tempo para sair da área central). B – ambulação (número de quadrados invadidos). C – rearing (número de vezes que o animal se apóia nas patas traseiras assumindo posição vertical). D – SAP (número de espreitas). Barras representam média ± erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina, d diazepam, A anfetamina, f1 fluoxetina 1 mg/kg, f10 fluoxetina 10 mg/kg, f20 fluoxetina 20 mg/kg (ANOVA uma via seguida pelo teste de Newman Keuls ou Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann Witney;  $p \leq 0,05$ ).

Com relação à atividade locomotora avaliada após os diferentes tratamentos no campo aberto (Figura 23–B) pode-se observar que os animais que receberam fluoxetina nas doses de 1, 10 e 20 mg/kg apresentaram um perfil de ambulação semelhante entre si e apresentaram ambulação significativamente menor que os animais que receberam anfetamina. Os animais que receberam as doses 1 ou 10 mg/kg de fluoxetina apresentaram ambulação significativamente maior que os animais que receberam salina. A dose de fluoxetina 40 mg/kg provocou uma redução significativa na ambulação em relação a todos os outros grupos de tratamento. Os animais que receberam anfetamina ou diazepam apresentaram um comportamento locomotor significativamente maior que os animais tratados com salina [ $F(6,66) = 13,14$ ,  $p < 0,001$ ].

A atividade exploratória vertical no campo aberto (Figura 23–C) dos animais tratados com fluoxetina 20 mg/kg foi significativamente maior que a dos animais que receberam diazepam. O número de *rearings* dos animais

que receberam fluoxetina 40 mg/kg foi significativamente menor que a dos animais tratados com a dose de 20 mg/kg. Os animais que receberam as doses de 1 ou 10 mg/kg de fluoxetina não diferiram significativamente dos grupos controle. Os animais tratados com anfetamina ou diazepam não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo salina [ $H(6,69) = 9,74, p < 0,05$ ].

O número de espreitas ou SAP dos animais tratados com fluoxetina 40 mg/kg no campo aberto (Figura 23–D) foi significativamente maior que todos os outros grupos de tratamento, exceto em relação ao grupo salina. As doses de 1, 10 e 20 mg/kg de fluoxetina não apresentaram diferenças significativas em relação aos grupos controles. Os animais tratados com anfetamina ou diazepam não apresentaram o comportamento de SAP no campo aberto sendo diferentes dos animais tratados com salina [ $H(6,67) = 20,28, p < 0,001$ ].

Todas as doses de fluoxetina apresentaram um aumento significativo na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (Figura 24–A) em relação ao grupo anfetamina e uma redução significativa nesse parâmetro em relação ao grupo diazepam. Os animais que receberam as doses de 1 ou 40 mg/kg apresentaram aumento significativo em relação ao grupo salina. Os grupos fluoxetina 10, 20 e 40 mg/kg permaneceram significativamente menos tempo nos braços abertos que os animais que receberam fluoxetina 1mg/kg, mas os animais tratados com fluoxetina 40 mg/kg permaneceram mais tempo nos braços abertos que os animais que receberam fluoxetina 10 ou 20 mg/kg. O tempo de permanência nos braços abertos dos animais que receberam anfetamina foi significativamente menor que o do grupo salina, mas os animais que receberam diazepam permaneceram significativamente mais tempo que os animais tratados com salina [ $F(6,66) = 40,34, p < 0,001$ ].

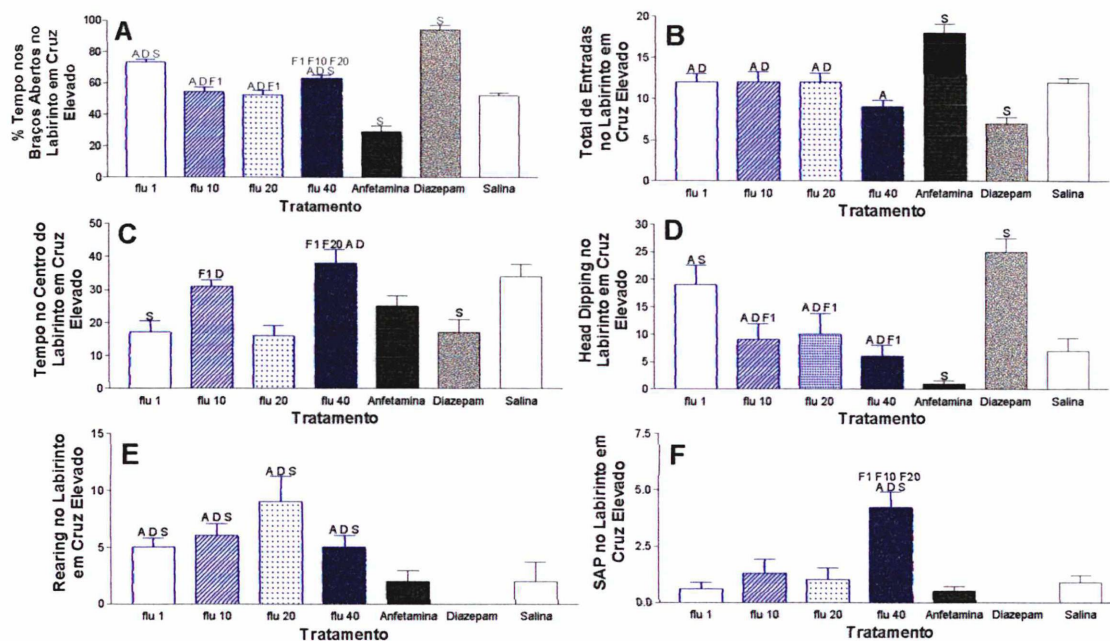


Figura 24. Efeitos ansiolíticos agudos da Fluoxetina no Labirinto em Cruz Elevado

Efeitos das doses de fluoxetina: 1 mg/kg (□), 10 mg/kg (▨), 20 mg/kg (▩) ou 40 mg/kg (■), e das doses de anfetamina 2 mg/kg (■), diazepam 2 mg/kg (▩) e salina (□) sobre a ansiedade de camundongos expostos agudamente ao teste do labirinto em cruz elevado. A – tempo de permanência nos braços abertos. B – total de entradas nos braços abertos e fechados. C – tempo na área central. D – número de vezes que o animal nos braços abertos explora em direção ao assoalho da sala (head dipping). E – número de vezes que o animal se apóia nas patas traseiras assumindo posição vertical (rearing). F – número de espreitas (SAP). Barras representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina, d diazepam, A anfetamina, f1 fluoxetina 1 mg/kg, f10 fluoxetina 10 mg/kg, f20 fluoxetina 20 mg/kg (ANOVA uma via seguida pelo teste de Newman Keuls ou Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann Witney;  $p \leq 0,05$ ).

O número total de entradas no labirinto em cruz elevado (Figura 24-B) dos animais que receberam fluoxetina em qualquer uma das doses não apresentou diferenças significativas em relação aos animais tratados com salina, mas ele apresentou ambulação significativamente maior que os animais tratados com diazepam, ou significativamente menor que os animais que receberam anfetamina, exceto a dose de 40 mg/kg. O tratamento com anfetamina provocou um aumento significativo na ambulação dos animais em relação ao grupo salina. Os animais tratados com diazepam ambularam significativamente menos que o grupo salina [ $F(6,69) = 7,98$ ,  $p < 0,001$ ].

O tempo total de permanência no centro do labirinto em cruz elevado, incluindo o tempo de latência, está representado na figura 24–C. Os animais tratados com fluoxetina 1 mg/kg apresentaram redução significativa no

tempo na área central em relação aos animais tratados com salina. O tratamento com fluoxetina 10 mg/kg apresentou maior tempo na área central que os animais que receberam fluoxetina 1 mg/kg ou diazepam. A dose 20 mg/kg não provocou alterações significativas nesse comportamento em relação aos grupos controles. Os animais tratados com fluoxetina 40 mg/kg permaneceram significativamente mais tempo no centro do labirinto em cruz elevado em relação a todos os outros grupos de tratamento, exceto quanto ao grupo salina. O tratamento com anfetamina não alterou significativamente o comportamento em relação ao controle, mas o tratamento com diazepam provocou redução significativa em relação ao grupo controle [ $F(6,66) = 3,98$ ,  $p < 0,001$ ].

O número de *head dippings* no labirinto em cruz elevado (Figura 24–D) dos animais tratados com fluoxetina 1 mg/kg foi maior que o dos animais tratados com anfetamina ou salina. As doses de 10, 20 ou 40 mg/kg apresentaram aumento significativo nesse comportamento em relação ao grupo anfetamina, mas redução em relação aos grupos fluoxetina 1 mg/kg e diazepam. O tratamento com anfetamina causou redução significativa do número de *head dippings* em relação ao grupo salina, mas o tratamento com diazepam provocou um aumento significativo nesse parâmetro em relação ao grupo salina [ $H(6,69) = 34,44$ ,  $p < 0,001$ ].

Todas as doses de fluoxetina provocaram um aumento no número de *rearings* no labirinto em cruz elevado (Figura 24–E) em relação aos grupos controles. Os animais tratados com anfetamina ou diazepam não diferiram significativamente dos animais tratados com salina [ $F(6,69) = 10,14$ ,  $p < 0,001$ ].

O número de espreitas ou SAP (Figura 24–F) dos animais tratados com as doses de 1, 10 ou 20 mg/kg de fluoxetina não foram significativamente diferentes dos grupos controles. Os animais tratados com a dose de 40 mg/kg apresentaram um número de espreitas significativamente maior que todos os grupos de tratamento. Os animais que receberam anfetamina ou diazepam não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo salina [ $H(6,68) = 8,33$ ,  $p < 0,05$ ].

Os animais tratados com paroxetina nas doses de 5, 10, e 20 mg/kg apresentaram latência significativamente maior para sair da área central do

campo aberto (Figura 25–A) do que os animais tratados com anfetamina e diazepam. Os animais que receberam a dose de 40 mg/kg apresentaram um tempo significativamente maior de latência somente em relação ao grupo anfetamina [ $H(6,67) = 9,95, p < 0,05$ ].

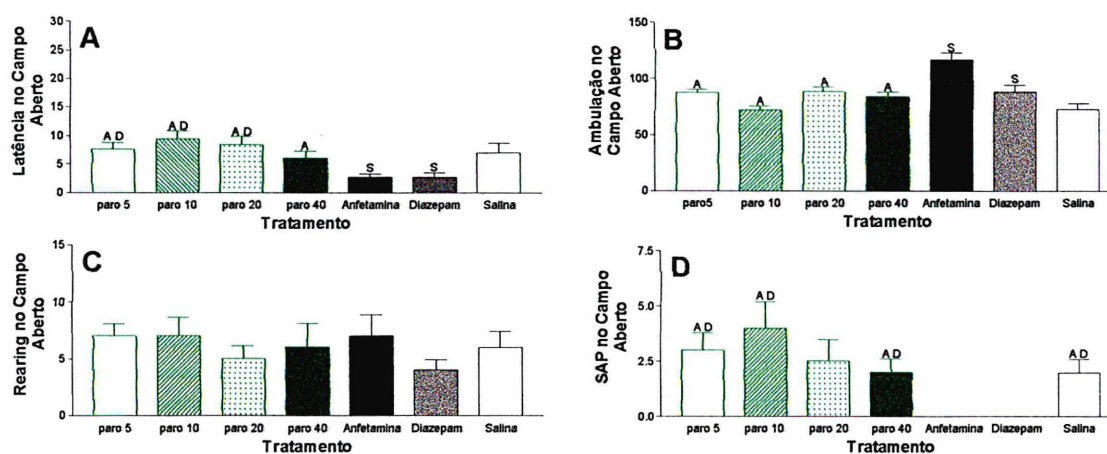


Figura 25. Efeitos ansiolíticos agudos da Paroxetina no Campo Aberto

Efeitos das doses de paroxetina: 5 mg/kg ( $\square$ ), 10 mg/kg ( $\square$  com diagonal), 20 mg/kg ( $\square$  com pontos), ou 40 mg/kg ( $\blacksquare$ ), e das doses de anfetamina 2 mg/kg ( $\blacksquare$ ), diazepam 2 mg/kg ( $\square$  com pontos) e salina ( $\square$ ) sobre a ansiedade de camundongos expostos agudamente ao teste do campo aberto. A – Latência (tempo para sair da área central). B – Ambulação (número de quadrados invadidos). C – Rearing (número de vezes que o animal se apóia nas patas traseiras assumindo posição vertical). D – SAP (número de espreitas). Barras representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de:  $\underline{s}$  salina,  $\underline{d}$  diazepam,  $\underline{A}$  anfetamina,  $\underline{p1}$  paroxetina 1 mg/kg,  $\underline{p10}$  paroxetina 10 mg/kg,  $\underline{p20}$  paroxetina 20 mg/kg (ANOVA uma via seguida pelo teste de Newman Keuls ou Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann Witney;  $p \leq 0,05$ ).

Com relação à atividade locomotora dos diferentes tratamentos no campo aberto (Figura 25–B) pode-se observar que todas as doses de paroxetina provocaram redução significativa na ambulação em relação aos animais que receberam anfetamina, mas não apresentaram diferença significativas em relação aos outros controles ou entre as doses de paroxetina [ $F(6,66) = 9,97, p < 0,001$ ].

Com relação à atividade exploratória vertical no campo aberto (Figura 25–C) não foram observadas diferenças significativas entre as doses de paroxetina ou entre os grupos controles [ $H(6,68) = 5,63, p = 0,13$ ].

O número de espreitas dos animais tratados com as dose de 5, 10 ou 40 mg/kg de paroxetina no campo aberto (Figura 25–D) foi significativamente maior que o dos animais tratados com anfetamina ou diazepam. A dose de 20 mg/kg de paroxetina não apresentou diferenças significativas em relação aos grupos controles [ $H(6,67) = 20,28, p < 0,001$ ].

Todas as doses de paroxetina provocaram um aumento significativo na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (Figura 26–A) em relação aos grupos anfetamina e salina e uma redução significativa nesse parâmetro em relação ao grupo diazepam. Os animais que receberam as doses de 20 ou 40 mg/kg apresentaram redução significativa em relação aos grupos paroxetina 10 ou 5 mg/kg, respectivamente [ $F(6,66) = 40,35, p < 0,001$ ].

O número total de entradas no labirinto em cruz elevado (Figura 26–B) dos animais que receberam paroxetina em qualquer uma das doses não diferiu significativamente em relação ao dos animais tratados com salina, mas os animais tratados com paroxetina apresentaram ambulação significativamente maior que os animais tratados com diazepam, ou significativamente menor que os animais que receberam anfetamina [ $F(6,68) = 7,98, p < 0,001$ ].

O tempo total de permanência no centro do labirinto em cruz elevado, incluindo o tempo de latência, está representado na figura 26–C. Os animais tratados com paroxetina 5 mg/kg apresentaram redução significativa no tempo na área central em relação aos animais tratados com salina. Os animais que receberam tratamento com paroxetina 10 ou 40 mg/kg apresentaram maior tempo na área central que os animais que receberam diazepam. A dose 20 mg/kg não provocou alterações significativas nesse comportamento em relação aos grupos controles [ $F(6,66) = 3,98, p < 0,001$ ].

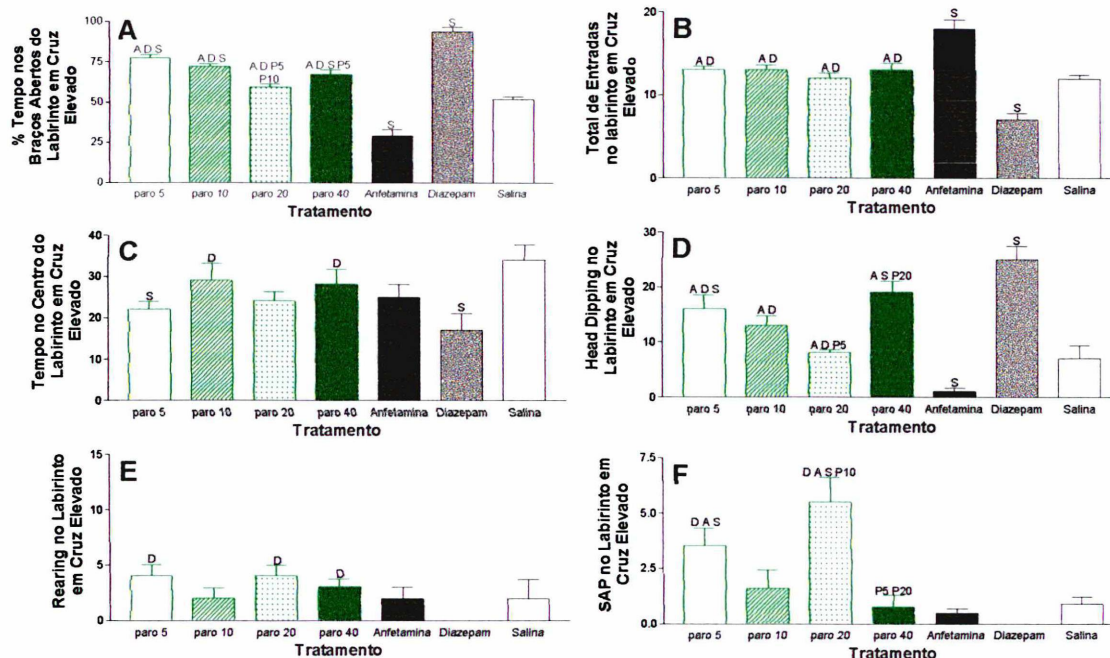


Figura 26. Efeitos ansiolíticos agudos da Paroxetina no Labirinto em Cruz Elevado

Efeitos das doses de paroxetina: 5 mg/kg (□), 10 mg/kg (▨), 20 mg/kg (▩) ou 40 mg/kg (■), e das doses de anfetamina 2 mg/kg (■), diazepam 2 mg/kg (▨) e salina (□) sobre a ansiedade de camundongos expostos agudamente ao teste do labirinto em cruz elevado. A – tempo de permanência nos braços abertos. B – total de entradas nos braços abertos e fechados. C – tempo na área central. D – número de vezes que o animal nos braços abertos explora em direção ao assoalho da sala (head dipping). E – número de vezes que o animal se apóia nas patas traseiras assumindo posição vertical (rearing). F – número de espreitas (SAP). Barras representam média  $\pm$  erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: s salina, d diazepam, A anfetamina, p1 paroxetina 1 mg/kg, p10 paroxetina 10 mg/kg, p20 paroxetina 20 mg/kg (ANOVA uma via seguida pelo teste de Newman Keuls ou Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Mann Whitney;  $p \leq 0,05$ ).

Os animais tratados com as doses de 10, 20 ou 40 mg/kg (Figura 26–D) apresentaram aumento significativo no número de *head dippings* no labirinto em cruz elevado em relação ao grupo anfetamina. O tratamento com as doses 5, 10 ou 20 provocou redução significativa no número de *head dippings* em relação ao grupo diazepam. Os animais tratados com paroxetina 5 ou 40 mg/kg apresentaram comportamento significativamente mais frequente que salina. A dose de 20 mg/kg provocou redução significativa nesse parâmetro em relação ao grupo paroxetina 5 mg/kg, e a dose de 40 mg/kg provocou um aumento significativo nesse parâmetro em relação ao grupo paroxetina 20 mg/kg [ $H(6,67) = 17,37$ ,  $p < 0,001$ ].

Todas as doses de paroxetina provocaram um aumento no número de *rearrings* no labirinto em cruz elevado (Figura 26–E) somente em relação ao grupo diazepam, exceto a dose de 10 mg/kg [ $H(6,69) = 7,76, p < 0,05$ ].

O número de espreitas ou SAP (Figura 26–F) dos animais tratados com as doses de 5 e 20 mg/kg de paroxetina foram significativamente maiores que os animais tratados com diazepam, anfetamina ou salina. Os animais tratados com paroxetina 20 mg/kg apresentaram um número significativamente maior de espreitas que o grupo tratado com a dose de 10 mg/kg, que não provocou alterações significativas nesse parâmetro em relação aos controles. Os animais tratados com a dose de 40 mg/kg apresentaram um número de espreitas significativamente menor que os grupos paroxetina 5 ou 20 mg/kg [ $H(6,68) = 18,46, p < 0,001$ ].

## 5.7 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM FLUOXETINA/PAROXETINA PELO ETANOL E AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM ETANOL POR FLUOXETINA/PAROXETINA

### **Efeito Estimulante**

Os animais que foram tratados durante 27 dias com salina e no 28º dia receberam salina, etanol, fluoxetina 10 mg/kg (Figura 27) ou paroxetina 5 mg/kg (Figura 28) não apresentaram diferenças entre si quanto à ambulação no campo aberto [ $F(4,47)=0,44, p=0,77$ ] ou na caixa de movimentação espontânea [ $F(4,49)=2,05, p=0,10$ ] e nem no número total de entradas no labirinto em cruz elevado [ $F(4,48)=1,35, p=0,26$ ]

Os animais que foram tratados durante 27 dias com etanol e no 28º dia receberam etanol apresentaram um aumento significativo na atividade locomotora com relação aos animais que foram tratados com salina e no dia no teste receberam salina ou etanol e aos animais tratados com etanol que receberam salina no campo aberto [ $F(3,37) = 12,31, p < 0,001$ ] (Figura 27–A) e na caixa de movimentação espontânea [ $F(3,38) = 31,94, p < 0,001$ ] (Figura 27–B). No labirinto em cruz elevado (Figura 27–C) esses animais apresentaram aumento significativo no número total de entradas com

relação aos animais que receberam salina no dia do teste [ $F(3,36) = 2,75, p < 0,05$ ] Não foram observadas diferenças significativas entre os animais que foram tratados com etanol e que no 28º receberam salina daqueles que receberam ISRS [ $F_{CA}(3,33) = 0,99, p = 0,41$ ;  $F_{CME}(3,33) = 0,17, p = 0,84$ ,  $F_{LCE}(3,33) = 0,48, p = 0,62$ ]. Nos três modelos animais, a substituição do tratamento com etanol por ISRS no 28º dia provocou redução significativa na atividade locomotora com relação aos animais tratados durante 28 dias com etanol [ $F_{CA}(3,33) = 12,48, p < 0,001$ ;  $F_{CME}(3,34) = 28,39, p < 0,001$ ,  $F_{LCE}(3,33) = 5,63, p < 0,05$ ]. Além disso, os animais tratados no 28º dia com paroxetina 5 mg/kg (Figura 28–C) apresentaram no labirinto em cruz elevado uma redução significativa no número total de entradas com relação aos animais tratados com salina e que no dia do teste receberam salina ou paroxetina [ $F(3,37) = 3,89, p < 0,05$ ].

Os animais que foram tratados durante 27 dias com fluoxetina 10 mg/kg e no 28º dia receberam salina ou fluoxetina 10 mg/kg não apresentaram diferenças significativas entre si [ $F_{CA}(3,44) = 1,71, p = 0,18$ ;  $F_{CME}(3,43) = 0,44, p = 0,72$ ;  $F_{LCE}(3,42) = 0,48, p = 0,62$ ] (Figura 27). Os animais que receberam fluoxetina 10 mg/kg durante 28 dias apresentaram no labirinto em cruz elevado uma redução no número total de entradas em relação aos animais tratados somente com salina [ $F(3,46) = 5,10, p < 0,05$ ].

A substituição do tratamento com fluoxetina 10 mg/kg por etanol provocou uma redução na ambulação no campo aberto em relação aos animais que receberam somente etanol (Figura 27–A), mas, esses animais apresentaram uma atividade locomotora significativamente maior do que os animais tratados com fluoxetina e que no dia do teste receberam salina ou fluoxetina [ $F(6,73) = 9,77, p < 0,001$ ]. Na caixa de movimentação espontânea [ $F(6,74) = 30,86, p < 0,001$ ] e no labirinto em cruz elevado [ $F(6,70) = 6,91, p < 0,001$ ] o aumento significativo na atividade locomotora foi em relação aos animais tratados com salina que no dia do teste receberam salina ou etanol, aos animais tratados com etanol que receberam fluoxetina e aos animais tratados com fluoxetina que receberam salina ou fluoxetina (Figura 27–B)

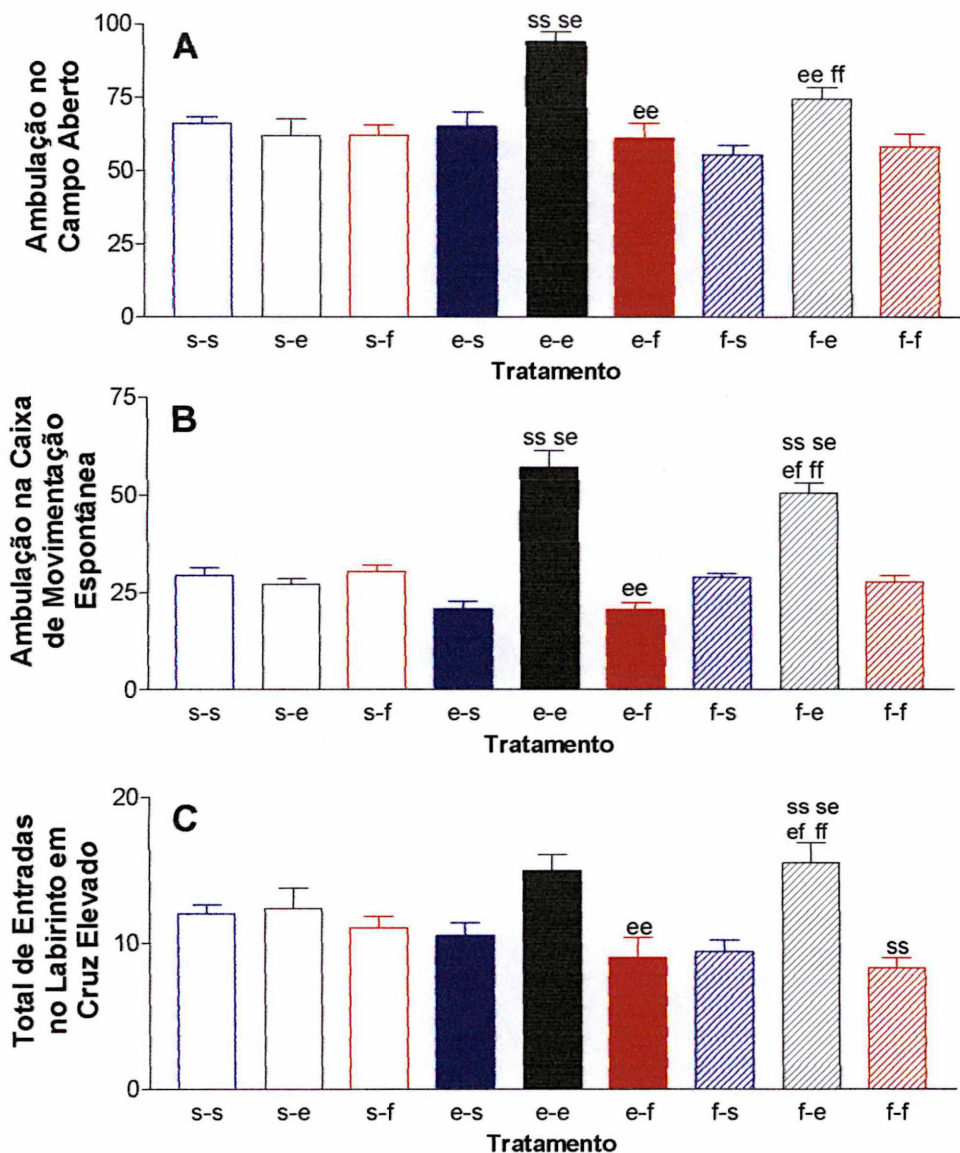


Figura 27. Efeitos da Substituição de Etanol por Fluoxetina 10 mg/kg ou de Fluoxetina 10 mg/kg por Etanol no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado.

Os efeitos da substituição do tratamento de 27 dias de: salina por salina ( $\square$ ), por etanol 2 g/kg ( $\square$ ) ou por fluoxetina 10 mg/kg ( $\square$ ); etanol 2 g/kg por salina ( $\blacksquare$ ), por etanol 2 g/kg ( $\blacksquare$ ) ou por fluoxetina 10 mg/kg ( $\blacksquare$ ); e fluoxetina 10 mg/kg por salina ( $\square$ ), por etanol 2 g/kg ( $\square$ ) ou por fluoxetina 10 mg/kg ( $\square$ ) representados como média  $\pm$  erro padrão. A – Ambulação no Campo Aberto (número de quadrados invadidos). B – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea (número de cruzamentos). C – Total de entradas no Labirinto em Cruz Elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Símbolos representam diferenças significativas de: ss animal tratado e testado com salina, se animal tratado com salina e testado com etanol, sf animal tratado com salina e testado com fluoxetina, ee animal tratado e testado com etanol, ef animal tratado com etanol e testado com fluoxetina, ff animal tratado e testado com fluoxetina (ANOVA uma via seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

Os animais que foram tratados durante 27 dias com paroxetina 5 mg/kg e no 28º dia receberam salina ou paroxetina 5 mg/kg foram significativamente diferentes na caixa de movimentação espontânea (Figura 28–B) e no labirinto em cruz elevado (Figura 28–C) [ $F_{CA}(3,42) = 0,95$ ,  $p = 0,42$ ;  $F_{CME}(3,43) = 4,93$ ,  $p < 0,05$ ;  $F_{LCE}(3,45) = 12,47$ ,  $p < 0,001$ ]. Os animais que receberam paroxetina 5 mg/kg durante 28 dias apresentaram um aumento na ambulação na caixa de movimentação espontânea em relação aos animais tratados com somente com salina [ $F(3,43) = 4,93$ ,  $p < 0,05$ ].

A substituição do tratamento com paroxetina 5 mg/kg por etanol não mostrou diferenças significativas entre animais tratados durante 28 dias com etanol. Esses animais apresentaram no campo aberto [ $F(5,61) = 7,93$ ,  $p < 0,001$ ] (Figura 28–A) e na caixa de movimentação espontânea [ $F(5,61) = 22,83$ ,  $p < 0,001$ ] (Figura 28–B) um aumento significativo na ambulação em relação aos animais tratados com salina que no dia do teste receberam salina ou etanol e aos animais tratados com paroxetina que receberam salina ou paroxetina. No labirinto em cruz elevado (Figura 28–C) a substituição do tratamento com paroxetina por etanol provocou um aumento significativo no número total de entradas com relação aos animais tratados com etanol e que receberam no dia do teste paroxetina e aos animais tratados com paroxetina que receberam salina [ $F(5,63) = 5,59$ ,  $p < 0,001$ ].

### **Efeito ansiolítico**

Os animais tratados com salina durante 27 dias e que receberam etanol no 28º dia mostraram um aumento significativo na porcentagem de tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado em relação aos animais que receberam somente salina. A substituição do tratamento com salina por fluoxetina 10 mg/kg (Figura 29-A) provocou um aumento significativo neste parâmetro com relação aos animais tratados com salina durante 28 dias. E a substituição de salina por paroxetina 5 mg/kg (Figura 29-B) não provocou diferenças com relação aos animais tratados somente com salina [ $F(4,44) = 11,87$ ,  $p < 0,001$ ].

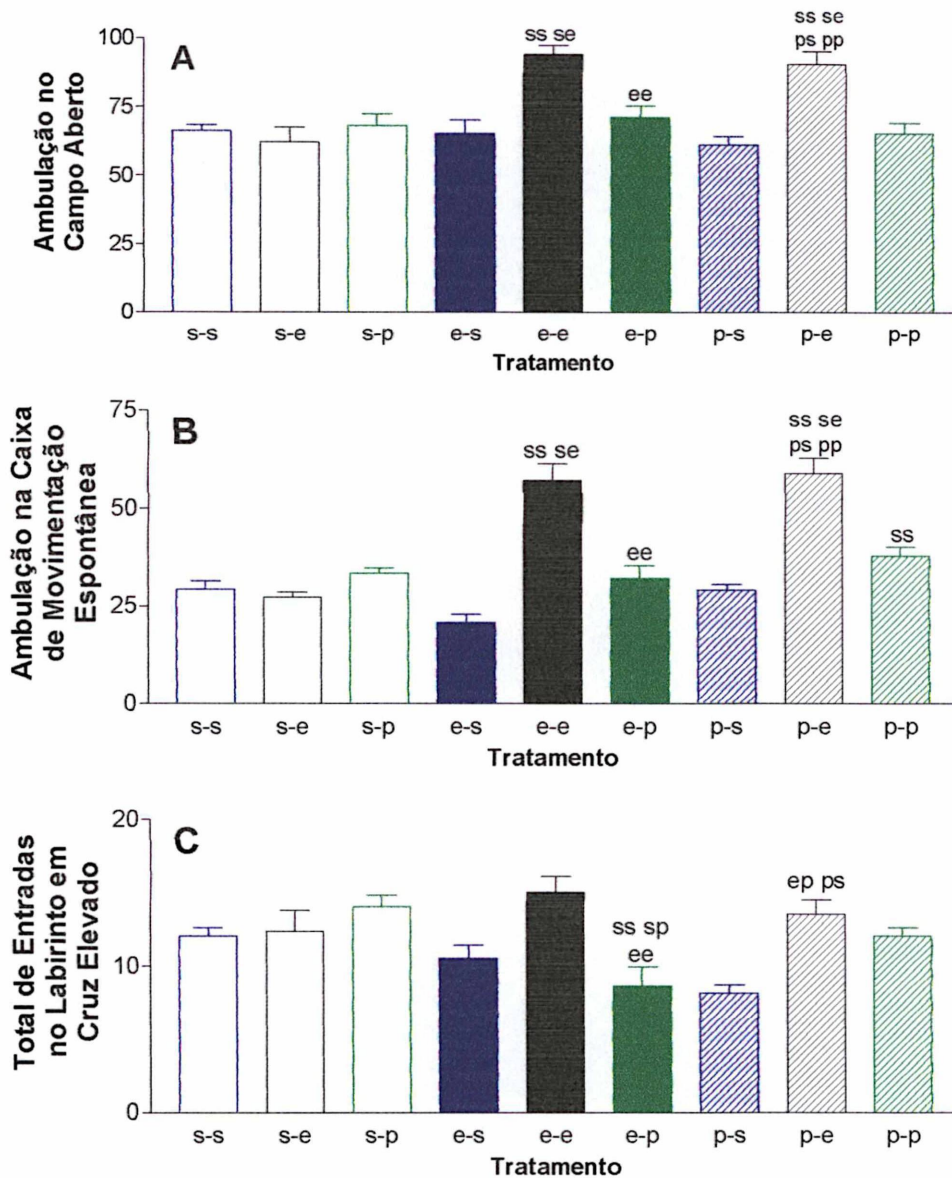


Figura 28. Efeitos da Substituição de Etanol por Paroxetina 5 mg/kg ou de Paroxetina 5 mg/kg por Etanol no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado.

Os efeitos da substituição do tratamento de 27 dias de: salina por salina ( $\square$ ), por etanol 2 g/kg ( $\square$ ) ou por paroxetina 5 mg/kg ( $\square$ ); etanol 2 g/kg por salina ( $\blacksquare$ ), por etanol 2 g/kg ( $\blacksquare$ ) ou por paroxetina 5 mg/kg ( $\blacksquare$ ); e paroxetina 5 mg/kg por salina ( $\square$ ), por etanol 2 g/kg ( $\square$ ) ou por paroxetina 5 mg/kg ( $\square$ ) representados como média  $\pm$  erro padrão. A – Ambulação no Campo Aberto (número de quadrados invadidos). B – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea (número de cruzamentos). C – Total de entradas no Labirinto em Cruz Elevado (total de entradas = entradas nos braços abertos + entradas nos braços fechados). Símbolos representam diferenças significativas de: ss animal tratado e testado com salina, se animal tratado com salina e testado com etanol, sp animal tratado com salina e testado com paroxetina, ee animal tratado e testado com etanol, ep animal tratado com etanol e testado com paroxetina, ps animal tratado com paroxetina e testado com salina, pp animal tratado e testado com paroxetina (ANOVA uma via seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

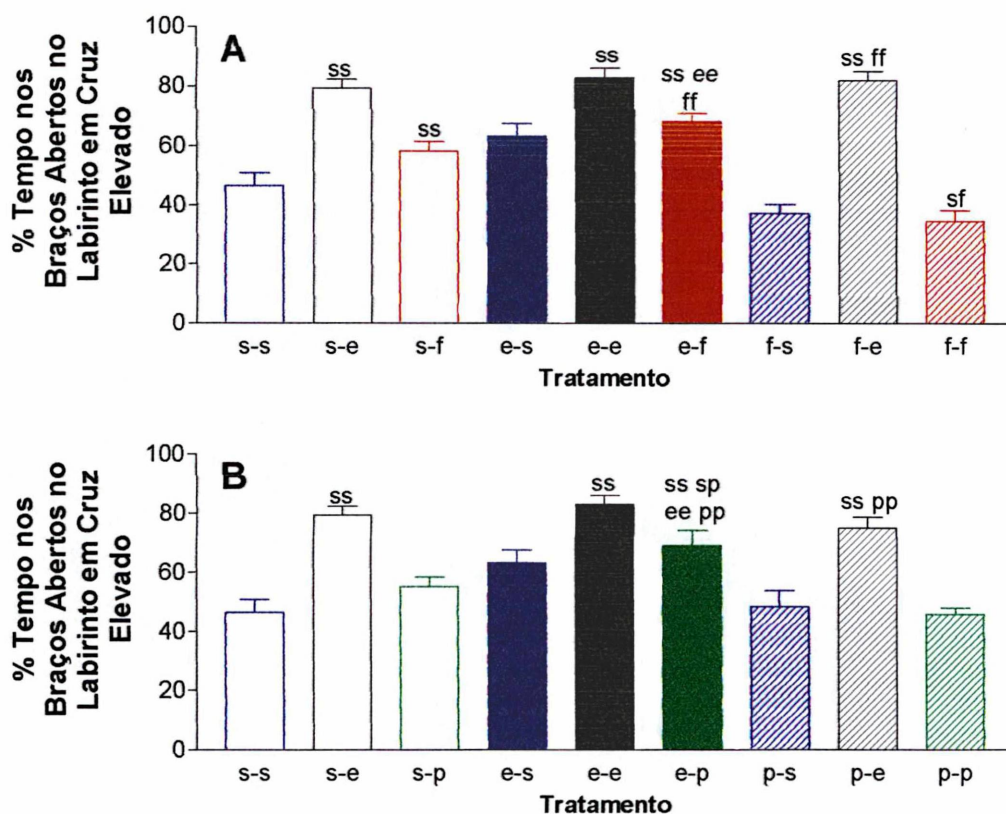


Figura 29. Efeitos da Substituição de Etanol por Fluoxetina 10 mg/kg ou Paroxetina 5 mg/kg ou de Fluoxetina 10 mg/kg ou Paroxetina 5 mg/kg por Etanol no Campo Aberto, Caixa de Movimentação Espontânea e Labirinto em Cruz Elevado.

Os efeitos da substituição do tratamento de 27 dias de salina por salina (□), por etanol 2 g/kg (□), por fluoxetina 10 mg/kg (□) ou por paroxetina 5 mg/kg (□); etanol 2 g/kg por salina (■), por etanol 2 g/kg (■), por fluoxetina 10 mg/kg (■) ou por paroxetina 5 mg/kg (■); fluoxetina 10 mg/kg por salina (▨), por etanol 2 g/kg (▨) ou por fluoxetina 10 mg/kg (▨); e paroxetina 5 mg/kg por salina (▨), por etanol 2 g/kg (▨) ou por paroxetina 5 mg/kg (▨) no tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado, representados como média ± erro padrão. Símbolos representam diferenças significativas de: ss animal tratado e testado com salina, sf animal tratado com salina e testado com fluoxetina, sp animal tratado com salina e testado com paroxetina, ee animal tratado e testado com etanol, ff animal tratado e testado com fluoxetina, pp animal tratado e testado com paroxetina (ANOVA uma via seguida pelo teste de Newman Keuls;  $p \leq 0,05$ ).

Os animais tratados somente com etanol apresentaram um aumento no tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado em relação aos animais tratados somente com salina e em relação àqueles tratados com etanol e que receberam salina no dia do teste [ $F(3,34) = 18,98$ ,  $p < 0,001$ ]. A substituição do tratamento dos animais tratados com etanol por

ISRS reduziu significativamente o tempo nos braços abertos em relação aos animais tratados somente com etanol ou salina. Além disso, os animais tratados com etanol e que receberam no dia do teste fluoxetina 10 mg/kg mostraram um aumento significativo neste parâmetro em relação aos animais que receberam somente fluoxetina. Os animais que receberam paroxetina no dia do teste permaneceram mais tempo nos braços abertos tanto em relação aos animais tratados com salina que receberam paroxetina como em relação aqueles que receberam somente paroxetina [ $F_{f10}(5,56) = 18,60, p < 0,001; F_{p5}(5,55) = 4,85, p < 0,001$ ]

Os animais tratados com ISRS durante 27 dias e que passaram a receber salina e aqueles que receberam ISRS durante 28 dias não apresentaram diferenças significativas entre si. Somente os animais tratados durante 28 dias com fluoxetina 10 mg/kg mostraram uma redução significativa no tempo de permanência nos braços abertos em relação aos animais tratados com salina que receberam fluoxetina no dia do teste [ $F_{f10}(3,39) = 24,03, p < 0,001; F_{p5}(3,39) = 1,07, p = 0,37$ ].

A substituição de ISRS por etanol mostrou um aumento significativo neste parâmetro em relação aos animais tratados com salina ou ISRS durante 28 dias e aos animais tratados com ISRS e que receberam salina no dia do teste. Esses animais não foram diferentes dos animais que receberam somente etanol [ $F_{f10}(6,68) = 34,86, p < 0,001; F_{p5}(6,64) = 17,43, p < 0,001$ ].

## 6 DISCUSSÃO

No presente trabalho, a atividade locomotora dos animais tratados agudamente com etanol mostrou-se aumentada na caixa de movimentação espontânea. A partir dos testes do 14° e 28° dias pôde-se observar o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante do etanol, também nos testes do campo aberto e labirinto em cruz elevado. Resultado semelhante foi observado em estudos anteriores, onde a administração repetida de etanol também induziu um aumento da atividade locomotora ou sensibilização (MASUR; BOERNGEN, 1980; MASUR; OLIVEIRA DE SOUZA et al., 1986; LESSOV; PHILLIPS, 1998; BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000; ROBINSON; BERRIDGE, 2000). Por outro lado, a administração de etanol durante 42 dias induziu uma redução na atividade locomotora na última avaliação, ao contrário do observado em estudos anteriores nos quais o tratamento crônico com etanol por um período de 60 dias ou mais manteve o desenvolvimento de sensibilização (MASUR; BOERNGEN, 1980; MASUR; OLIVEIRA DE SOUZA et al., 1986).

A associação das doses de 10 mg/kg de fluoxetina ou 5 mg/kg de paroxetina com etanol potencializou o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante do etanol constatado pelo aumento na atividade locomotora após 28 dias de tratamento nos três modelos animais utilizados. A dose de 1 mg/kg de fluoxetina associada ao etanol antagonizou o desenvolvimento de sensibilização. Em ambos resultados, a potencialização observada com a associação de etanol com a dose de 10 mg/kg de fluoxetina e o antagonismo com fluoxetina 1 mg/kg, foram também observados no experimento realizado durante 42 dias. Pode-se também observar que o aumento da dose de 1 mg/kg para 10 mg/kg ou 10 mg/kg para 20 mg/kg de fluoxetina a partir do 28° dia provocou um aumento na atividade locomotora dos animais em relação aos animais controle.

Nos experimentos de substituição, a administração aguda de etanol não interferiu na atividade locomotora dos animais, mas cronicamente provocou sensibilização ao efeito estimulante. A expressão de sensibilização locomotora observada nos animais tratados e testados com etanol

desapareceu quando foram testados com ISRS. No entanto, foi observada sensibilização naqueles animais que foram tratados cronicamente com ISRS e testados com dose desafio de etanol.

O aumento na atividade locomotora após a administração repetida de etanol ou o desenvolvimento de sensibilização decorre da interação entre vários fatores como variabilidade individual (fatores genéticos e hormonais) e os fatores experimentais (dose, intervalo entre os tratamentos, frequência e via de administração, e ambiente no qual a droga é administrada) (ROBINSON; BERRIDGE, 2000). A sensibilização é um fenômeno bastante complexo e ainda desconhecido. A exposição prévia a uma droga potencialmente aditiva favorece a sua auto-administração e o condicionamento de preferência de lugar pareado com a administração da droga, levando a um aumento da motivação de busca pela droga (ROBINSON; BERRIDGE, 2000). Estudos mostram que a sensibilização não ocorre somente para os efeitos psicomotores, mas também para os efeitos de recompensa (LESSOV; PHILLIPS, 1998; ROBINSON; BERRIDGE, 2003).

A propriedade da sensibilização em aumentar a responsividade para a recompensa não parece estar limitada ao estímulo de recompensa da droga, mas também se aplica a outros aspectos, como o aumento da motivação. A facilitação dessa motivação, relacionada à sensibilização, é acompanhada pelo aumento do efluxo de dopamina no núcleo accumbens em resposta a um estímulo associado à droga. Os efeitos de estimulação locomotora que estão relacionados aos sistemas de recompensa das drogas envolvem neuroadaptações principalmente do sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (ROBINSON; BERRIDGE, 2000). Esse sistema tem neurônios dopaminérgicos com corpos celulares na área tegmental ventral (ATV) e projeções através do feixe prosencefálico medial terminando no núcleo acumbens (NAc) e no córtex pré-frontal (HYMAN; MALENKA, 2001). A liberação de dopamina no NAc é controlada por mecanismos inibitórios e excitatórios diretos e indiretos envolvendo diferentes neurotransmissores. A liberação de dopamina tem um controle tônico inibitório na ATV pelo GABA e um controle excitatório pelo glutamato diretamente no NAc via projeções do neocórtex, amígdala e hipocampo. O etanol interfere principalmente com os

receptores ionotrópicos aumentando a ação dos receptores nicotínicos, GABA<sub>A</sub> e serotoninérgicos 5-HT<sub>3</sub> e inibindo o glutamatérgico NMDA (SAMSON; HARRIS, 1992; WISE, 1998; SODERPALM, ERICSON et al., 2000; ROBINSON; BERRIDGE, 2003). A exposição crônica ao etanol causa dessensibilização gabaérgica através da redução da subunidade  $\alpha_1$  dos receptores GABA<sub>A</sub> na ATV e causa supersensibilidade dos receptores NMDA através do aumento do número destes receptores (FADDA; ROSSETTI, 1998). Essas adaptações nesses receptores causariam aumento na liberação de dopamina.

De forma contrária a estudos anteriores (MASUR; BOERNGEN, 1980; MASUR; OLIVEIRA DE SOUZA et al., 1986) o tratamento crônico com etanol pelo período de 42 dias provocou na última avaliação uma redução na atividade locomotora dos animais, como já mencionado acima, sugerindo o desenvolvimento de tolerância a este efeito do etanol. Aqueles estudos foram delineados para determinar a ocorrência do desenvolvimento de tolerância (redução do efeito inicial após a administração repetida de uma droga) em relação ao efeito de ativação locomotora do etanol em camundongos. Diferenças no delineamento experimental podem justificar esses resultados. Os animais do presente estudo foram testados em períodos de 15 em 15 dias por um tempo de 3 minutos, o que não ocorreu nos estudos anteriores. Além disso, Masur e colaboradores em 1986 utilizaram fêmeas que foram expostas ao etanol por via oral (única fonte fluida). Entre outros fatores, pode-se levar ainda em consideração as diferentes cepas utilizadas, condições de saúde dos animais e diferentes condições laboratoriais.

O sistema serotoninérgico pode alterar diretamente a neurotransmissão dopaminérgica mesocorticolímbica através da interação dos receptores 5HT<sub>1B/1D</sub> (PARSONS; WEISS et al., 1998; MORIKAWA, MANZONI et al., 2000) e 5-HT<sub>3</sub> (CAMPBELL; KOHL et al., 1996; LOVINGER, 1997) e bloqueio dos receptores 5-HT<sub>2C</sub> (HIGGINS; FLETCHER, 2003), que estão envolvidos na liberação de dopamina no núcleo accumbens; e dos autorreceptores somatodendríticos 5-HT<sub>1A</sub> (YOSHIMOTO, UEDA et al., 2000).

Pode-se interpretar que a potencialização do desenvolvimento de

sensibilização causada pelas doses maiores de paroxetina e fluoxetina tenha sido decorrente do acúmulo crônico de serotonina nas sinapses dopaminérgicas levando a um aumento da liberação de dopamina (BRODIE; TRIFUNOVIC et al., 1995). Esses fármacos também potencializaram o efeito estimulante locomotor de drogas agonistas de receptores D2/D3 no núcleo accumbens, após administração crônica (D'AQUILA, MONLEON et al., 1997). No entanto, a dose 1 mg/kg de fluoxetina antagonizou o desenvolvimento de sensibilização para o efeito estimulante do etanol. Isto pode ser explicado pela preferência de ação dos ISRS nos corpos celulares localizados no núcleo da rafe, de modo que, baixas doses do ISRS atuariam preferencialmente nos corpos celulares diminuindo os disparos serotoninérgicos (JONES; BLACKBURN, 2002). Em consequência, ocorreria menor liberação de dopamina no núcleo accumbens, e a sensibilização seria reduzida. Este fato pode ser corroborado pela ação da dose menor de paroxetina, que não chegou a bloquear a sensibilização induzida pelo etanol, porém não causou potencialização.

A ausência de substituição da estimulação locomotora quando se administrou ISRS aos animais tratados cronicamente com etanol poderia estar relacionada à retirada dos efeitos do etanol sobre o sistema de recompensa. Isto sugere que a administração aguda ou crônica somente do ISRS não interferiu de forma significativa nos níveis de dopamina no Nac, pois, em outro estudo, a administração de fluoxetina ou do precursor da síntese serotoninérgica, 5-hidroxitriptofano, reduziram a atividade locomotora em modelos animais. Entretanto, a infusão de serotonina na ATV ou diretamente no NAc aumenta a liberação de dopamina nessa região (DI MASCIO, DI GIOVANNI et al., 1998; LEE; KORNETSKY, 1998).

Quando o tratamento com os ISRS foi substituído pelo etanol, observou-se estimulação locomotora semelhante àquela observada quando se tratam animais cronicamente com etanol. Esses dados sugerem que o tratamento crônico com ISRS causou mecanismos de neuroadaptação semelhantes aqueles causados pelo etanol. A real natureza desses mecanismos em comum necessita ser melhor estudada

Fluoxetina e paroxetina, agudamente, não alteraram o comportamento locomotor em nenhum dos experimentos, doses ou testes comportamentais

empregados. Exceto a dose de 40 mg/kg de fluoxetina que causou redução na atividade locomotora nos testes realizados. Como já citado acima, agudamente não existem evidências de que os ISRS interferem significativamente nos níveis de dopamina no Nac (DI MASCIO, DI GIOVANNI et al., 1998).

Cronicamente foi observado que a administração das diferentes doses de fluoxetina nos diferentes experimentos e modelos animais provocou redução da atividade locomotora, que pode ser interpretado como efeito depressor geral. E a administração de paroxetina somente interferiu na atividade locomotora aumentando a ambulação dos animais no experimento de substituição de tratamentos.

Os efeitos crônicos dos ISRS dependem, além da sua seletividade, de neuroadaptações do sistema de neurotransmissão serotoninérgica. A seletividade dos ISRS varia com seu grau de ligação com sistemas de recaptção de outras monoaminas (STAHL; ENTSUAH et al., 2002). O aumento extracelular de serotonina provocado inicialmente pelos ISRS é limitado pelo *feedback* negativo envolvendo os autorreceptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>1B/1D</sub>. O uso contínuo dos ISRS provocaria a dessensibilização gradual desses receptores e o restabelecimento da neurotransmissão. Na clínica, este período coincide com o período de atraso na resposta desses fármacos e conseqüentemente na melhora dos pacientes (NEUMAIER; ROOT et al., 1996; HERVAS, VILARO et al., 2001)

A produção de serotonina por neurônios serotoninérgicos pode ser aumentada pela maior disponibilidade de seu precursor, L-triptofano (JACOBS; AZMITIA, 1992). A disponibilidade de L-triptofano é dependente da via de administração. A administração oral tem efeito menor que a administração intraperitoneal devido à baixa absorção do L-triptofano. Por sua vez, a administração periférica provoca a ativação de enzimas hepáticas e também pode resultar na saturação da proteína carreadora de aminoácidos da barreira hematoencefálica (THORRE, SARRE et al., 1996)

Estudos em animais demonstraram que a administração de uma dieta livre de triptofano induziu uma diminuição gradual na concentração cortical extracelular de serotonina em ratos (FADDA; COCCO et al., 2000) Uma dieta rica em triptofano aumenta a síntese de serotonina em algumas

regiões do cérebro como o hipotálamo (PRICE, CHARNEY et al., 1990). Em humanos a depleção aguda de triptofano provoca piora no humor e aumento da irritabilidade ou resposta agressiva a eventos estressantes (BJORK, DOUGHERTY et al., 2000; YOUNG; LEYTON, 2002). Existem evidências que a administração intraperitoneal aguda de etanol, em ratos jovens, provocou supressão da síntese de serotonina e redução na expressão da triptofano hidroxilase, enzima limitante na síntese da serotonina na rafe (JANG, SHIN et al., 2002). Ao contrário, o tratamento crônico com etanol aumentou o metabolismo de serotonina em ratos e camundongos por aumentar a atividade da triptofano hidroxilase e/ou a disponibilidade do triptofano circulante no cérebro, secundariamente à inibição hepática da triptofano pirrolase. Na retirada do etanol crônico há diminuição do metabolismo da serotonina e da disponibilidade do triptofano. Isso explicaria a piora do estado de humor associado com a retirada do etanol (HALEEM, 1990). Outros dados demonstraram através de microdiálise que o aumento nos níveis dos metabólitos ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) e 5-hidroxitriptofol (5-HTPL) no *locus ceruleus* induzido pelo triptofano é potencializado pelo etanol. Essa região está implicada na ativação comportamental, nos estímulos dolorosos e estressantes e na modulação da atividade cardiovascular (HAYASHI, NAKAI et al., 2003).

Molina e colaboradores demonstraram que a administração de triptofano atenuou a atividade locomotora induzida pela cocaína e sugeriram que aumentos nos níveis de triptofano competiriam no transporte de aminoácidos através da barreira hematoencefálica, interferindo na síntese de dopamina no núcleo accumbens. Além disso, dopamina e serotonina compartilham vias metabólicas tais como hidroxilação, descarboxilação, desaminação oxidativa e estocagem (MOLINA, AHMED et al., 2001). No atual trabalho, L-triptofano associado ao etanol provocou redução na atividade locomotora e exploratória dos animais quando administrado aguda e cronicamente. O aumento preferencial da síntese de serotonina e conseqüentemente ativação dos receptores serotoninérgicos, provocados pela administração de L-triptofano no presente estudo, levariam à inibição do desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante locomotor do etanol via ativação dopaminérgica. O grande aumento de triptofano cerebral

privilegiaria a ativação serotoninérgica em detrimento da ativação dopaminérgica causada pelo etanol.

Somente a administração de L-triptofano e não dos ISRS causou redução na atividade exploratória ou número de *rearings*. Mudanças comportamentais após a administração de L-triptofano sozinho ou associado a inibidores seletivos de recaptção de serotonina foram descritas anteriormente (GREEN, 1984; BERENDSEN; BROEKKAMP, 1990). Além de redução na atividade exploratória, também foram observados piloereção, salivação, abdução das patas posteriores, tremor, hipotermia, cauda em Straub, movimentos repetidos de cabeça, entre outros. Esses autores sugerem que diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos teriam correlação com determinados comportamentos. A ativação do receptor 5-HT<sub>2</sub> induziria movimentos de cabeça e a ativação dos receptores pré-sinápticos 5-HT<sub>1A</sub> levaria a redução da temperatura corporal dos animais, por exemplo. Os efeitos observados dependeriam da interação funcional desses diferentes receptores.

A co-administração de etanol + L-triptofano causou agudamente efeito ansiogênico e cronicamente efeito ansiolítico. Pode-se sugerir que agudamente prevaleceu o efeito do triptofano e cronicamente prevaleceu o efeito ansiolítico do etanol provavelmente em decorrência da sua ação em outros sistemas de neurotransmissão como o gabaérgico, por exemplo.

A ação do L-triptofano sobre os comportamentos observados no labirinto em cruz elevado e no campo aberto no presente estudo sugere um efeito ansiogênico, como em outros estudos (HANDLEY, MCBLANE et al., 1993; JANCZAK; BAKKEN et al., 2001). A redução no comportamento exploratório dos animais observado nos experimentos pode ser a causa desse aumento nos níveis de medo ou ansiedade. Em humanos, estudos mostraram que a administração de triptofano causou efeitos ansiolíticos e sedativos (SANDFORD; ARGYROPOULOS et al., 2000) e que a depleção de triptofano provocou aumento na ansiedade ou pânico (SCHRUERS, VAN DIEST et al., 2002), sugerindo que o triptofano seria útil no tratamento dessas patologias. Novos estudos devem ser realizados para esclarecer os efeitos observados. A relação de doses das dietas diárias de triptofano para roedores e humanos deve ser observada. A administração de doses de L-

triptofano nos animais correspondentes àquelas administradas nas dietas dos experimentos em humanos é importante para a comparação dos resultados.

O efeito ansiolítico provocado pelo etanol que é considerado como efeito reforçador negativo, foi também avaliado no presente estudo. Um estudo prévio já havia relatado que no labirinto em cruz elevado baixas doses de etanol induzem agudamente efeitos ansiolíticos e que esses efeitos são mantidos ao longo do tratamento crônico (BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000). Esses achados foram confirmados por nossos experimentos.

O efeito ansiolítico do etanol administrado aguda e cronicamente pode ser explicado principalmente pela ação pós-sináptica do etanol em receptores GABA<sub>A</sub> e por sua ação inibindo a estimulação dos receptores NMDA (BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000; LABUDA; HALE, 2000). Porém, o tratamento crônico com etanol também interfere com o sistema serotoninérgico aumentando o número de receptores 5-HT<sub>2</sub>. O bloqueio desses receptores em ratos pode prevenir os efeitos ansiogênicos observados na retirada da droga (OLAUSSON; ENGEL et al., 2002).

Em roedores o efeito ansiolítico do etanol parece depender de vários fatores como o tipo de modelo animal empregado para avaliar ansiedade, a dose de etanol administrada e o genótipo (BOWERS; ELLIOTT et al., 2001). Ratos geneticamente selecionados que preferem consumir etanol são mais ansiosos que aqueles que não preferem (JUNE, DEVARAJU et al., 1998).

Quando os ISRS foram associados ao etanol, notou-se que a paroxetina e as doses menores de fluoxetina não interferiram significativamente no efeito ansiolítico do etanol, mas a dose de 10 mg/kg de fluoxetina antagonizou esse efeito, em ambos experimentos, 28 ou 42 dias. No experimento de associação durante 42 dias os animais tratados com a associação fluoxetina 1 mg/kg + etanol apresentaram o mesmo comportamento no 28º dia de teste. Outros estudos em camundongos mostraram que fluvoxamina e citalopram, outros ISRSs, não interferiram sobre o efeito ansiolítico do etanol. Por outro lado a fluoxetina na dose de 20 mg/kg antagonizou o efeito ansiolítico do etanol da mesma forma que a demonstrada nesse trabalho com a dose de 10 mg/kg (DURCAN, LISTER et

al , 1988).

No experimento de substituição, agudamente, o etanol foi ansiolítico em animais sem tratamento ou tratados previamente com ISRS. O tratamento crônico com etanol causou diminuição da ansiedade com ou sem dose desafio de etanol, sugerindo o desenvolvimento de neuroadaptação persistente. Essa neuroadaptação se manifestou quando os animais tratados cronicamente com etanol receberam como desafio o ISRS. Assim, a diminuição da ansiedade induzida pelo etanol parece prevalecer tanto aguda como cronicamente.

A administração aguda do ISRS aos grupos que foram tratados com salina ou etanol não alterou o comportamento de ansiedade dos animais. Ou seja, a redução da ansiedade observada com o tratamento crônico com etanol não foi alterada pela administração aguda de fluoxetina ou paroxetina.

A administração de fluoxetina sozinha em camundongos desencadeou reações ansiogênicas, aguda e cronicamente, nos experimentos realizados. Este resultado está de acordo com o observado por outros pesquisadores que relataram que em modelos animais, o tratamento agudo com ISRS provocou aumento no comportamento de ansiedade, inclusive em ratos (SILVA; ALVES et al., 1999; SALCHNER; SINGEWALD, 2002). A ação da fluoxetina na ansiedade é complexa e não é totalmente conhecida.

O sistema cerebral serotoninérgico está relacionado com ansiedade, sendo que de maneira geral, o aumento na neurotransmissão serotoninérgica está associado com ansiogênese e a redução na neurotransmissão com a redução na ansiedade. Vários estudos em animais e humanos confirmam essa hipótese (LABUDA; FUCHS, 2002; LANGEN; DIETZE et al., 2002; LIN, UHL, 2002) Dentre os 14 subtipos de receptores serotoninérgicos sabe-se que estão envolvidos na ansiedade principalmente os receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B/1D</sub>, 5-HT<sub>2C</sub> e 5-HT<sub>3</sub>

O disparo neuronal dos neurônios serotoninérgicos do núcleo dorsal da rafe estão primariamente sob o controle dos autorreceptores somatodendríticos 5-HT<sub>1A</sub>. A dessensibilização dos autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> reduz os efeitos inibitórios (BLIER, PINEYRO et al , 1998). Drogas agonistas parciais desse receptor, como a buspirona, diminuem a liberação basal de

serotonina e são efetivas no tratamento da ansiedade generalizada (STAMFORD, DAVIDSON et al., 2000). Camundongos *knockout* para receptores 5HT<sub>1A</sub> apresentam fenótipo de ansiedade (TOTH, 2003).

Da mesma forma, a dessensibilização de autorreceptores 5-HT<sub>1B</sub> resulta na diminuição do feedback negativo da liberação de serotonina observado cronicamente (ARTIGAS, 1993). A ativação do receptor 5-HT<sub>1B</sub> por um agonista seletivo (CP94,253) diminuiu o tempo de permanência de ratos nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (LANGEN; DIETZE et al., 2002). Existem evidências de que o polimorfismo no gene humano para receptores 5HT<sub>1B</sub> está associado à maior incidência de alcoolismo (ZHUANG, GROSS et al., 1999). Foi também observado que camundongos *knockout* desse receptor são mais agressivos que os selvagens e bebem duas vezes mais álcool (STAMFORD, DAVIDSON et al., 2000).

A desregulação na função dos receptores 5-HT<sub>2</sub> tem importância no desenvolvimento de patologias como depressão e ansiedade. O bloqueio de receptores 5-HT<sub>2</sub> produz efeitos ansiogênicos (NI; MILEDI, 1997, LIN; PARSONS, 2002). Fluoxetina parece ter uma função modulatória na função dos receptores 5-HT<sub>2C</sub> (JENCK, MOREAU et al., 1998). Em humanos, são observados efeitos ansiogênicos quando se administra agudamente o m-clorofenilpiperazina (mCPP) que atua como agonista total dos receptores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> e como parcial do 5-HT<sub>2A</sub> ou de agentes liberadores de serotonina, como a fenfluramina (SANDFORD; ARGYROPOULOS et al., 2000) Antagonistas dos receptores 5HT<sub>2</sub>, como a ritanserina, amperozide e FG5974 suprimem o consumo de álcool sem interferir no consumo de água. No entanto, essas drogas parecem reduzir a palatabilidade para o álcool e outros alimentos, sugerindo um efeito inespecífico. Os autores sugerem que o mecanismo de ação envolveria a diminuição dos disparos dopaminérgicos mesocorticolímbicos (JOHNSON; AIT-DAOUD, 2000).

A multiplicidade de receptores serotoninérgicos, segundos mensageiros e sua distribuição neuronal são a principal dificuldade na compreensão da ação da serotonina. Antagonistas dos receptores 5-HT<sub>3</sub>, como o tropisetrom, ondansetrom, e zaclopride, e a deleção de uma subunidade do receptor 5-HT<sub>3A</sub> provocaram perfil ansiolítico em ratos e camundongos (KELLEY, BRATT et al., 2003) Evidências indicam que antagonistas dos receptores 5-

HT<sub>3</sub> diminuem níveis de dopamina mesolímbica e atenuam os efeitos estimulantes psicomotores de drogas de abuso. Sabe-se que o etanol potencializa diretamente os efeitos da serotonina por ativar os receptores 5-HT<sub>3</sub> e que os antagonistas desses receptores são efetivos na prevenção da síndrome de retirada de etanol e outras drogas de abuso (GRANT, 1995; KELLEY; BRATT et al., 2003).

O efeito ansiogênico apresentado pela fluoxetina é descrito na clínica, principalmente quando administrada agudamente. Outros ISRS não apresentam esse efeito, sendo que a paroxetina foi liberada pelo órgão responsável pela comercialização de medicamentos nos Estados Unidos *Food and Drug Administration* (FDA) para tratamento de transtornos de ansiedade. Contudo, em modelos animais existe relato de perfil ansiogênico da paroxetina dependendo da dose administrada (SALCHNER; SINGEWALD, 2002), o que não foi observado no presente estudo no qual a paroxetina não interferiu na ansiedade em camundongos. Estudos em animais têm demonstrado que o efeito dos ISRS sobre a ansiedade poderia estar relacionado com a quantidade administrada e conseqüentemente com a quantidade de serotonina que estaria sendo acumulada na fenda sináptica (SALCHNER; SINGEWALD, 2002).

A mudança no perfil de ansiedade dos animais que receberam somente ISRS provavelmente ocorreu devido a neuroadaptações em sistemas diferentes daqueles no qual o etanol atua para manter seu perfil ansiolítico. As neuroadaptações provocadas pelo tratamento com os ISRS não interferiram com a ação ansiolítica do etanol. A redução na neurotransmissão serotoninérgica relacionada ao controle de disparos pelos autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> poderia estar relacionada com os efeitos ansiogênicos dos ISRS. Por outro lado, existem neurônios gabaérgicos na rafe com atividade inibitória na liberação de serotonina e conseqüentemente redução na ansiogênese provocada pelo aumento de serotonina (NISHIKAWA; SCATTON, 1985).

A função do sistema serotoninérgico no controle dos comportamentos impulsivos e compulsivos faz com que os ISRS sejam extensivamente usados no tratamento dos transtornos de humor e ansiedade (KURTZ, STEWART et al., 1996), mas o uso de ISRS no tratamento do alcoolismo

tem resultados pouco consistentes, como descritos anteriormente (JOHNSON; AIT-DAOUD, 2000). Contudo, existem evidências da eficácia da fluoxetina no tratamento de pacientes dependentes que apresentam depressão ou transtornos do pânico como co-morbidade (CORNELIUS, SALLOUM et al., 1997; DRIESSEN, MEIER et al., 2001).

## 7 CONCLUSÕES

- 1) O presente estudo demonstrou que em camundongos albinos suíços a administração crônica de fluoxetina ou paroxetina associadas ao etanol potencializa o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante do etanol de forma dose-dependente.
- 2) O efeito ansiolítico provocado pelo etanol foi antagonizado somente por fluoxetina enquanto que paroxetina não interferiu significativamente sobre esse efeito
- 3) O tratamento crônico somente com fluoxetina levou a um comportamento ansiogênico, efeito não observado com paroxetina.
- 4) As neuroadaptações provocadas pelos inibidores seletivos da recaptação de serotonina, fluoxetina e paroxetina, no experimento de substituição facilitaram o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante locomotor do etanol. Entretanto, as neuroadaptações provocadas pelo etanol não foram substituídas por fluoxetina ou paroxetina.
- 5) As propriedades ansiolíticas do etanol não sofreram interferência da ação aguda ou crônica da fluoxetina ou da paroxetina, apesar do perfil ansiogênico observado principalmente com o tratamento crônico com fluoxetina

## 8 REFERÊNCIAS

- ANDREATINI, R.; BOERNGEN-LACERDA, R.; ZORZETO FILHO, D. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. *Rev Bras Psiquiatr*, v.23, p.233-242, 2001.
- ARTIGAS, F. 5-HT and antidepressants: new views from microdialysis studies. *Trends Pharmacol Sci*, v.14, p.262, 1993.
- BERENDSEN, H.H.; BROEKKAMP, C.L. Behavioural evidence for functional interactions between 5-HT-receptor subtypes in rats and mice. *Br J Pharmacol*, v.101, p.667-673, 1990.
- BERKE, J.D.; HYMAN, S.E. Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron*, v.25, p.515-532, 2000.
- BJORK, J.M.; DOUGHERTY, D.M.; MOELLER, F.G.; SWANN, A.C. Differential behavioral effects of plasma tryptophan depletion and loading in aggressive and nonaggressive men. *Neuropsychopharmacology*, v.22, p.357-369, 2000.
- BLAKELY, R.D.; BAUMAN, A.L. Biogenic amine transporters: regulation in flux. *Curr Opin Neurobiol*, v.10, p.328-336, 2000.
- BLIER, P.; PINEYRO, G.; EL MANSARI, M.; BERGERON, R.; DE MONTIGNY, C. Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. *Ann N Y Acad Sci*, v.861, p.204-216, 1998.
- BOERNGEN-LACERDA, R.; SOUZA-FORMIGONI, M.L. Does the increase in locomotion induced by ethanol indicate its stimulant or anxiolytic properties? *Pharmacol Biochem Behav*, v.67, p.225-232, 2000.
- BORSINI, F.; PODHORNA, J.; MARAZZITI, D. Do animal models of anxiety predict anxiolytic-like effects of antidepressants? *Psychopharmacology (Berl)*, v.163, p.121-141, 2002.

- BOURIN, M.; CHUE, P.; GUILLON, Y. Paroxetine: a review. *CNS Drug Rev*, v.7, p.25-47, 2001.
- BOWERS, B.J.; ELLIOTT, K.J.; WEHNER, J.M. Differential sensitivity to the anxiolytic effects of ethanol and flunitrazepam in PKCgamma null mutant mice. *Pharmacol Biochem Behav*, v.69, p.99-110, 2001.
- BOWERS, B.J.; WEHNER, J.M. Ethanol consumption and behavioral impulsivity are increased in protein kinase Cgamma null mutant mice. *J Neurosci*, v.21, p.RC180, 2001.
- BROCCO, M.; DEKEYNE, A.; VEIGA, S.; GIRARDON, S.; MILLAN, M.J. Induction of hyperlocomotion in mice exposed to a novel environment by inhibition of serotonin reuptake. A pharmacological characterization of diverse classes of antidepressant agents. *Pharmacol Biochem Behav*, v.71, p.667-680, 2002.
- BRODIE, M.S.; TRIFUNOVIC, R.D.; SHEFNER, S.A. Serotonin Potentiates Ethanol-Induced Excitation of Ventral Tegmental Area Neurons in Brain-Slices from 3 Different Rat Strains. *J Pharmacol Exp Ther*, v.273, p.1139-1146, 1995.
- BUHOT, M.C. Serotonin receptors in cognitive behaviors. *Curr Opin Neurobiol*, v.7, p.243-254, 1997.
- BURNS, L.; TEESSON, M. Alcohol use disorders comorbid with anxiety, depression and drug use disorders. Findings from the Australian National Survey of Mental Health and Well Being. *Drug Alcohol Depend*, v.68, p.299-307, 2002.
- CAMPBELL, A.D.; KOHL, R.R.; MCBRIDE, W.J. Serotonin-3 receptor and ethanol-stimulated somatodendritic dopamine release. *Alcohol*, v.13, p.569-574, 1996.
- CHOUINARD, G.; SAXENA, B.; BELANGER, M.C.; RAVINDRAN, A.; BAKISH, D.; BEAUCLAIR, L.; MORRIS, P.; VASAVAN NAIR, N.P.; MANCHANDA, R.; REESAL, R.; REMICK, R.; O'NEILL, M.C. A Canadian

multicenter, double-blind study of paroxetine and fluoxetine in major depressive disorder. *J Affect Disord*, v.54, p.39-48, 1999.

CLEMENT, Y.; KIA, K.H.; DAVAL, G.; VERGE, D. An autoradiographic study of serotonergic receptors in a murine genetic model of anxiety-related behaviors. *Brain Res*, v.709, p.229-242, 1996.

COCCARO, E.F.; KAVOUSSI, R.J.; HAUGER, R.L. Serotonin function and antiaggressive response to fluoxetine: a pilot study. *Biol Psychiatry*, v.42, p.546-552, 1997.

COREY, D.T.; WALTON, A.; WIENER, N.I. Development of carbohydrate preference during water rationing: a specific hunger? *Physiol Behav*, v.20, p.547-552, 1978.

CORNELIUS, J.R.; SALLOUM, I.M.; EHLER, J.G.; JARRETT, P.J.; CORNELIUS, M.D.; PEREL, J.M.; THASE, M.E.; BLACK, A. Fluoxetine in depressed alcoholics. A double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry*, v.54, p.700-705, 1997.

CRABBE, J.C., JR.; JOHNSON, N.A.; GRAY, D.K.; KOSOBUD, A.; YOUNG, E.R. Biphasic effects of ethanol on open-field activity: sensitivity and tolerance in C57BL/6N and DBA/2N mice. *J Comp Physiol Psychol*, v.96, p.440-451, 1982.

DALAYEUN, J.F.; NORES, J.M.; BERGAL, S. Physiology of beta-endorphins. A close-up view and a review of the literature. *Biomed Pharmacother*, v.47, p.311-320, 1993.

D'AQUILA, P.; MONLEON, S.; BORSINI, F.; BRAIN, P.; WILLNER, P. Anti-anhedonic actions of the novel serotonergic agent flibanserin, a potential rapidly-acting antidepressant. *Eur J Pharmacol*, v.340, p.121-132, 1997.

DI MASCIO, M.; DI GIOVANNI, G.; DI MATTEO, V.; PRISCO, S.; ESPOSITO, E. Selective serotonin reuptake inhibitors reduce the spontaneous activity of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Brain Res Bull*, v.46, p.547-554, 1998.

- DOHRMAN, D.P.; REITER, C.K. Ethanol modulates nicotine-induced upregulation of nAChRs. *Brain Res*, v.975, p.90-98, 2003.
- DRIESSEN, M.; MEIER, S.; HILL, A.; WETTERLING, T.; LANGE, W.; JUNGHANNS, K. The course of anxiety, depression and drinking behaviours after completed detoxification in alcoholics with and without comorbid anxiety and depressive disorders. *Alcohol Alcohol*, v.36, p.249-255, 2001.
- DUDEK, B.C.; MAIO, A.; PHILLIPS, T.J.; PERRONE, M. Naturalistic behavioral assessment of anxiolytic properties of benzodiazepines and ethanol in mice. *Neurosci Lett*, v.63, p.265-270, 1986.
- DUDEK, B.C.; PHILLIPS, T.J.; HAHN, M.E. Genetic analyses of the biphasic nature of the alcohol dose-response curve. *Alcohol Clin Exp Res*, v.15, p.262-269, 1991.
- DURAND, M.; BERTON, O.; AGUERRE, S.; EDNO, L.; COMBOURIEU, I.; MORMEDE, P.; CHAOULOFF, F. Effects of repeated fluoxetine on anxiety-related behaviours, central serotonergic systems, and the corticotropic axis axis in SHR and WKY rats. *Neuropharmacology*, v.38, p.893-907, 1999.
- DURCAN, M.J.; LISTER, R.G.; ECKARDT, M.J.; LINNOILA, M. Behavioral interactions of fluoxetine and other 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors with ethanol in tests of anxiety, locomotion and exploration. *Psychopharmacology (Berl)*, v.96, p.528-533, 1988.
- EISON, A.S.; EISON, M.S. Serotonergic mechanisms in anxiety. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v.18, p.47-62, 1994.
- EVENDEN, J.L.; RYAN, C.N. Behavioral responses to psychomotor stimulant drugs: localization in the central nervous system. *Pharmacol Ther*, v.36, p.151-172, 1988.
- FADDA, F. Tryptophan-Free Diets: A Physiological Tool to Study Brain Serotonin Function. *News Physiol Sci*, v.15, p.260-264, 2000.

- FADDA, F.; COCCO, S.; STANCAMPIANO, R. A physiological method to selectively decrease brain serotonin release. *Brain Res Brain Res Protoc*, v.5, p.219-222, 2000.
- FADDA, F.; ROSSETTI, Z.L. Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. *Prog Neurobiol*, v.56, p.385-431, 1998.
- FILE, S.E.; DAY, S. Effects of time of day and food deprivation on exploratory activity in the rat. *Anim Behav*, v.20, p.758-762, 1972.
- FINN, D.A.; CRABBE, J.C. Chronic ethanol differentially alters susceptibility to chemically induced convulsions in withdrawal seizure-prone and -resistant mice. *J Pharmacol Exp Ther*, v.288, p.782-790, 1999.
- FLINT, J. Animal models of anxiety and their molecular dissection. *Semin Cell Dev Biol*, v.14, p.37-42, 2003.
- GOBERT, A.; RIVET, J.M.; CISTARELLI, L.; MELON, C.; MILLAN, M.J. Buspirone modulates basal and fluoxetine-stimulated dialysate levels of dopamine, noradrenaline and serotonin in the frontal cortex of freely moving rats: activation of serotonin<sub>1A</sub> receptors and blockade of alpha<sub>2</sub>-adrenergic receptors underlie its actions. *Neuroscience*, v.93, p.1251-1262, 1999.
- GRANT, K.A. The role of 5-HT<sub>3</sub> receptors in drug dependence. *Drug Alcohol Depend*, v.38, p.155-171, 1995.
- GREEN, A.R. 5-HT-mediated behavior. Animal studies. *Neuropharmacology*, v.23, p.1521-1528, 1984.
- GULLEY, J.M.; MCNAMARA, C.; BARBERA, T.J.; RITZ, M.C.; GEORGE, F.R. Selective serotonin reuptake inhibitors: effects of chronic treatment on ethanol-reinforced behavior in mice. *Alcohol*, v.12, p.177-181, 1995.
- HALEEM, D.J. Injected tryptophan increases brain but not plasma tryptophan levels more in ethanol treated rats. *Life Sci*, v.47, p.971-979, 1990.

- HANDLEY, S.L.; MCBLANE, J.W.; CRITCHLEY, M.A.; NJUNG'E, K. Multiple serotonin mechanisms in animal models of anxiety: environmental, emotional and cognitive factors. *Behav Brain Res*, v.58, p.203-210, 1993.
- HAYASHI, M.; NAKAI, T.; BANDO, T.; HOSHI, K. Acute effect of simultaneous administration of tryptophan and ethanol on serotonin metabolites in the locus coeruleus in rats. *Eur J Pharmacol*, v.462, p.61-66, 2003.
- HEINZ, A.; JONES, D.W.; MAZZANTI, C.; GOLDMAN, D.; RAGAN, P.; HOMMER, D.; LINNOILA, M.; WEINBERGER, D.R. A relationship between serotonin transporter genotype and in vivo protein expression and alcohol neurotoxicity. *Biol Psychiatry*, v.47, p.643-649, 2000.
- HERVAS, I.; VILARO, M.T.; ROMERO, L.; SCORZA, M.C.; MENGOD, G.; ARTIGAS, F. Desensitization of 5-HT(1A) autoreceptors by a low chronic fluoxetine dose effect of the concurrent administration of WAY-100635. *Neuropsychopharmacology*, v.24, p.11-20, 2001.
- HIGGINS, G.A.; FLETCHER, P.J. Serotonin and drug reward: focus on 5-HT(2C) receptors. *Eur J Pharmacol*, v.480, p.151-162, 2003.
- HIGLEY, J.D.; BENNETT, A.J. Central nervous system serotonin and personality as variables contributing to excessive alcohol consumption in non-human primates. *Alcohol Alcohol*, v.34, p.402-418, 1999.
- HUNT, W.A.; LANDS, W.E. A role for behavioral sensitization in uncontrolled ethanol intake. *Alcohol*, v.9, p.327-328, 1992.
- HYMAN, S.E.; MALENKA, R.C. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci*, v.2, p.695-703, 2001.
- IKEDA, K.; KOBAYASHI, T.; KUMANISHI, T.; YANO, R.; SORA, I.; NIKI, H. Molecular mechanisms of analgesia induced by opioids and ethanol: is the GIRK channel one of the keys? *Neurosci Res*, v.44, p.121-131, 2002.

- JACOBS, B.L.; AZMITIA, E.C. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev*, v.72, p.165-229, 1992.
- JACOBS, B.L.; FORNAL, C.A. Activity of serotonergic neurons in behaving animals. *Neuropsychopharmacology*, v.21, p.9S-15S, 1999.
- JANCZAK, A.M.; BAKKEN, M.; BRAASTAD, B.O. A cautionary note regarding the use of nutritional L-tryptophan to alter aversion-related behaviour in mice. *Appl Anim Behav Sci*, v.72, p.365-373, 2001.
- JANG, M.H.; SHIN, M.C.; LEE, T.H.; KIM, Y.P.; JUNG, S.B.; SHIN, D.H.; KIM, H.; KIM, S.S.; KIM, E.H.; KIM, C.J. Alcohol and nicotine administration inhibits serotonin synthesis and tryptophan hydroxylase expression in dorsal and median raphe of young rats. *Neurosci Lett*, v.329, p.141-144, 2002.
- JENCK, F.; MOREAU, J.L.; BERENDSEN, H.H.; BOES, M.; BROEKKAMP, C.L.; MARTIN, J.R.; WICHMANN, J.; VAN DELFT, A.M. Antiaversive effects of 5HT<sub>2C</sub> receptor agonists and fluoxetine in a model of panic-like anxiety in rats. *Eur Neuropsychopharmacol*, v.8, p.161-168, 1998.
- JOHNSON, B.A.; AIT-DAOUD, N. Medications to treat alcoholism. *Alcohol Res Health*, v.23, p.99-106, 1999.
- JOHNSON, B.A.; AIT-DAOUD, N. Neuropharmacological treatments for alcoholism: scientific basis and clinical findings. *Psychopharmacology (Berl)*, v.149, p.327-344, 2000.
- JONES, B.J.; BLACKBURN, T.P. The medical benefit of 5-HT research. *Pharmacol Biochem Behav*, v.71, p.555-568, 2002.
- JUNE, H.L.; DEVARAJU, S.L.; EGGERS, M.W.; WILLIAMS, J.A.; CASON, C.R.; GREENE, T.L.; LEVEIGE, T.; BRAUN, M.R.; TORRES, L.; MURPHY, J.M. Benzodiazepine receptor antagonists modulate the actions of ethanol in alcohol-preferring and -nonpreferring rats. *Eur J Pharmacol*, v.342, p.139-151, 1998.

- KELLEY, A.E.; BERRIDGE, K.C. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci*, v.22, p.3306-3311, 2002.
- KELLEY, S.P.; BRATT, A M.; HODGE, C.W. Targeted gene deletion of the 5-HT3A receptor subunit produces an anxiolytic phenotype in mice. *Eur J Pharmacol*, v.461, p.19-25, 2003.
- KEMA, I.P.; DE VRIES, E.G.; MUSKIET, F.A. Clinical chemistry of serotonin and metabolites. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, v.747, p.33-48, 2000.
- KENT, J.M.; COPLAN, J.D.; GORMAN, J.M. Clinical utility of the selective serotonin reuptake inhibitors in the spectrum of anxiety. *Biol Psychiatry*, v.44, p.812-824, 1998
- KOOB, G.F. Neurobiology of addiction. Toward the development of new therapies. *Ann N Y Acad Sci*, v.909, p.170-185, 2000.
- KOOB, G.F. Alcoholism: allostasis and beyond. *Alcohol Clin Exp Res*, v.27, p.232-243, 2003.
- KURTZ, D.L.; STEWART, R.B.; ZWEIFEL, M.; LI, T.K.; FROEHLICH, J.C. Genetic differences in tolerance and sensitization to the sedative/hypnotic effects of alcohol. *Pharmacol Biochem Behav*, v.53, p.585-591, 1996.
- LABUDA, C J.; FUCHS, P.N. Catecholamine depletion by reserpine blocks the anxiolytic actions of ethanol in the rat *Alcohol*, v 26, p 55-59, 2002
- LABUDA, C.J.; HALE, R L. Anxiety in mice following acute aspartame and ethanol exposure. *Alcohol*, v.20, p.69-74, 2000.
- LANGEN, B.; DIETZE, S.; FINK, H. Acute effect of ethanol on anxiety and 5-HT in the prefrontal cortex of rats *Alcohol*, v.27, p.135-141, 2002
- LEE, K , KORNETSKY, C Acute and chronic fluoxetine treatment decreases the sensitivity of rats to rewarding brain stimulation *Pharmacol Biochem Behav*, v 60, p 539-544, 1998

- LEMARQUAND, D.; PIHL, R.O.; BENKELFAT, C. Serotonin and alcohol intake, abuse, and dependence: clinical evidence. *Biol Psychiatry*, v.36, p.326-337, 1994.
- LESSOV, C.N.; PHILLIPS, T.J. Duration of sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, v.135, p.374-382, 1998.
- LI, Q.; BATTAGLIA, G.; VAN DE KAR, L.D. Autoradiographic evidence for differential G-protein coupling of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in rat brain: lack of effect of repeated injections of fluoxetine. *Brain Res*, v.769, p.141-151, 1997.
- LIN, D.; PARSONS, L.H. Anxiogenic-like effect of serotonin(1B) receptor stimulation in the rat elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*, v.71, p.581-587, 2002.
- LIN, Z.; UHL, G.R. Dopamine transporter mutants with cocaine resistance and normal dopamine uptake provide targets for cocaine antagonism. *Mol Pharmacol*, v.61, p.885-891, 2002.
- LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol Ther*, v.46, p.321-340, 1990.
- LOVINGER, D.M. Serotonin's role in alcohol's effects on the brain. *Alcohol Health & Research World*, v.21, p.114-120, 1997.
- LUKAS, S.; MENDELSON, J. Behavioral concomitants of ethanol and drug reinforcement. *NIDA Res Monogr*, v.81, p.422-427, 1988.
- MASUR, J.; BOERNGEN, R. The excitatory component of ethanol in mice: a chronic study. *Pharmacol Biochem Behav*, v.13, p.777-780, 1980.
- MASUR, J.; OLIVEIRA DE SOUZA, M.L.; ZWICKER, A.P. The excitatory effect of ethanol: absence in rats, no tolerance and increased sensitivity in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, v.24, p.1225-1228, 1986.

- MECHIEL KORTE, S.; DE BOER, S.F. A robust animal model of state anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze. *Eur J Pharmacol*, v.463, p.163-175, 2003.
- MENDLEWICZ, J. Predicting response: serotonin reuptake inhibition. *Int Clin Psychopharmacol*, v.14 Suppl 1, p.S17-20, 1999.
- MENESES, A. 5-HT system and cognition. *Neurosci Biobehav Rev*, v.23, p.1111-1125, 1999.
- MOLINA, P.E.; AHMED, N.; GATLEY, J.; VOLKOW, N.D.; ABUMRAD, N N. L-tryptophan attenuation of the dopaminergic and behavioral responses to cocaine. *Life Sci*, v.69, p.1897-1906, 2001.
- MORIKAWA, H.; MANZONI, O.J.; CRABBE, J.C.; WILLIAMS, J.T. Regulation of central synaptic transmission by 5-HT(1B) auto- and heteroreceptors. *Mol Pharmacol*, v.58, p.1271-1278, 2000.
- MURPHY, D.L.; WICHEMS, C.; LI, Q.; HEILS, A. Molecular manipulations as tools for enhancing our understanding of 5-HT neurotransmission. *Trends Pharmacol Sci*, v.20, p.246-252, 1999.
- NAUDON, L.; EL YACOUBI, M; VAUGEOIS, J.M.; LEROUX-NICOLLET, I.; COSTENTIN, J. A chronic treatment with fluoxetine decreases 5-HT(1A) receptors labeling in mice selected as a genetic model of helplessness *Brain Res*, v 936, p 68-75, 2002
- NEUMAIER, J F.; ROOT, D.C.; HAMBLIN, M.W. Chronic fluoxetine reduces serotonin transporter mRNA and 5-HT1B mRNA in a sequential manner in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology*, v.15, p.515-522, 1996
- NI, Y G , MILEDI, R. Blockage of 5HT2C serotonin receptors by fluoxetine (Prozac). *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.94, p 2036-2040, 1997.
- NISHIKAWA, T , SCATTON, B Inhibitory influence of GABA on central serotonergic transmission. Raphe nuclei as the neuroanatomical site of

- the GABAergic inhibition of cerebral serotonergic neurons. *Brain Res*, v.331, p.91-103, 1985.
- NUTT, D.J.; FORSHALL, S.; BELL, C.; RICH, A.; SANDFORD, J.; NASH, J.; ARGYROPOULOS, S. Mechanisms of action of selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of psychiatric disorders. *Eur Neuropsychopharmacol*, v.9 Suppl 3, p.S81-86, 1999.
- OLAUSSON, P.; ENGEL, J.A.; SODERPALM, B. Involvement of serotonin in nicotine dependence: processes relevant to positive and negative regulation of drug intake. *Pharmacol Biochem Behav*, v.71, p.757-771, 2002.
- PANDEY, S.C.; ZHANG, D.; MITTAL, N.; NAYYAR, D. Potential role of the gene transcription factor cyclic AMP-responsive element binding protein in ethanol withdrawal-related anxiety. *J Pharmacol Exp Ther*, v.288, p.866-878, 1999.
- PARSONS, L.H.; WEISS, F.; KOOB, G.F. Serotonin1B receptor stimulation enhances cocaine reinforcement. *J Neurosci*, v.18, p.10078-10089, 1998.
- PERETTI, S.; JUDGE, R.; HINDMARCH, I. Safety and tolerability considerations: tricyclic antidepressants vs. selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, v 403, p 17-25, 2000.
- PETRAKIS, I., KRYSTAL, J. Neuroscience Implications for treatment. *Alcohol Health & Research World*, v 21, p 157-160, 1997.
- PHILLIPS, T.J.; DICKINSON, S., BURKHART-KASCH, S. Behavioral sensitization to drug stimulant effects in C57BL/6J and DBA/2J inbred mice. *Behav Neurosci*, v 108, p.789-803, 1994
- PINEYRO, G., BLIER, P. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. *Pharmacol Rev*, v 51, p 533-591, 1999.

- POHORECKY, L.A. Brain catecholamines and ethanol: involvement in physical dependence and withdrawal. *Adv Exp Med Biol*, v.85A, p.495-513, 1977.
- PRICE, L.H.; CHARNEY, D.S.; DELGADO, P.L.; GOODMAN, W.K.; KRYSTAL, J.H.; WOODS, S.W.; HENINGER, G.R. Clinical studies of 5-HT function using i.v. L-tryptophan. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v.14, p.459-472, 1990.
- PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*, v.463, p.3-33, 2003.
- RISINGER, F.O.; DICKINSON, S.D.; CUNNINGHAM, C.L. Haloperidol reduces ethanol-induced motor activity stimulation but not conditioned place preference. *Psychopharmacology (Berl)*, v.107, p.453-456, 1992.
- ROBERTS, C.; PRICE, G.W.; MIDDLEMISS, D.N. Ligands for the investigation of 5-HT autoreceptor function. *Brain Res Bull*, v.56, p.463-469, 2001.
- ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction*, v.95 Suppl 2, p.S91-117, 2000.
- ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. Addiction. *Annu Rev Psychol*, v.54, p.25-53, 2003.
- RODGERS, R.J.; CAO, B.J.; DALVI, A.; HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res*, v.30, p.289-304, 1997.
- SALCHNER, P.; SINGEWALD, N. Neuroanatomical substrates involved in the anxiogenic-like effect of acute fluoxetine treatment. *Neuropharmacology*, v.43, p.1238-1248, 2002.

- SAMSON, H.H.; CHAPPELL, A. Dopaminergic involvement in medial prefrontal cortex and core of the nucleus accumbens in the regulation of ethanol self-administration: a dual-site microinjection study in the rat. *Physiol Behav*, v.79, p.581-590, 2003.
- SAMSON, H.H.; HARRIS, R.A. Neurobiology of alcohol abuse. *Trends Pharmacol Sci*, v.13, p.206-211, 1992.
- SANDFORD, J.J.; ARGYROPOULOS, S.V.; NUTT, D.J. The psychobiology of anxiolytic drugs. Part 1: Basic neurobiology. *Pharmacol Ther*, v.88, p.197-212, 2000.
- SCHATZBERG, A.F. New indications for antidepressants. *J Clin Psychiatry*, v.61 Suppl 11, p.9-17, 2000.
- SCHRUERS, K.; VAN DIEST, R.; OVERBEEK, T.; GRIEZ, E. Acute L-5-hydroxytryptophan administration inhibits carbon dioxide-induced panic in panic disorder patients. *Psychiatry Res*, v.113, p.237-243, 2002.
- SELLERS, E.M.; HIGGINS, G.A.; SOBELL, M.B. 5-HT and alcohol abuse. *Trends Pharmacol Sci*, v.13, p.69-75, 1992.
- SILVA, M.T.; ALVES, C.R.; SANTAREM, E.M. Anxiogenic-like effect of acute and chronic fluoxetine on rats tested on the elevated plus-maze. *Braz J Med Biol Res*, v.32, p.333-339, 1999.
- SODERPALM, B.; ERICSON, M.; OLAUSSON, P.; BLOMQUIST, O.; ENGEL, J.A. Nicotinic mechanisms involved in the dopamine activating and reinforcing properties of ethanol. *Behav Brain Res*, v.113, p.85-96, 2000.
- SPANAGEL, R.; ZIEGLGANSBERGER, W. Anti-craving compounds for ethanol: new pharmacological tools to study addictive processes. *Trends Pharmacol Sci*, v.18, p.54-59, 1997.

- STAHL, S.M.; ENTSUAH, R.; RUDOLPH, R.L. Comparative efficacy between venlafaxine and SSRIs: a pooled analysis of patients with depression. *Biol Psychiatry*, v.52, p.1166-1174, 2002.
- STAMFORD, J.A.; DAVIDSON, C.; MCLAUGHLIN, D.P.; HOPWOOD, S.E. Control of dorsal raphe 5-HT function by multiple 5-HT(1) autoreceptors: parallel purposes or pointless plurality? *Trends Neurosci*, v.23, p.459-465, 2000.
- SWIFT, R.M. Medications and alcohol craving. *Alcohol Res Health*, v.23, p.207-213, 1999.
- THIELEN, R.J.; MORZORATI, S.L.; MCBRIDE, W.J. Effects of ethanol on the dorsal raphe nucleus and its projections to the caudate putamen. *Alcohol*, v.23, p.131-139, 2001.
- THORRE, K.; SARRE, S.; TWAHIRWA, E.; MEEUSEN, R.; EBINGER, G.; HAEMERS, A.; MICHOTTE, Y. Effect of -tryptophan, -5-hydroxytryptophan and -tryptophan prodrugs on the extracellular levels of 5-HT and 5-HIAA in the hippocampus of the rat using microdialysis. *Eur J Pharmac Sci*, v.4, p.247-256, 1996.
- TOMKINS, D.M.; SELLERS, E.M. Addiction and the brain: the role of neurotransmitters in the cause and treatment of drug dependence. *Cmaj*, v.164, p.817-821, 2001.
- TOTH, M. 5-HT(1A) receptor knockout mouse as a genetic model of anxiety. *Eur J Pharmacol*, v.463, p.177-184, 2003.
- TURRI, M.G.; DATTA, S.R.; DEFRIES, J.; HENDERSON, N.D.; FLINT, J. QTL analysis identifies multiple behavioral dimensions in ethological tests of anxiety in laboratory mice. *Curr Biol*, v.11, p.725-734, 2001.
- VAILLANT, G. Entrevista com Especialista. Disponível em: <http://www.alcoolismo.com.br/> [2002 Maio].

- WIGHTMAN, R.M.; ROBINSON, D.L. Transient changes in mesolimbic dopamine and their association with 'reward'. *J Neurochem*, v.82, p.721-735, 2002.
- WILSON, A.W.; NEILL, J.C.; COSTALL, B. An investigation into the effects of 5-HT agonists and receptor antagonists on ethanol self-administration in the rat. *Alcohol*, v.16, p.249-270, 1998.
- WISE, R.A. Drug-activation of brain reward pathways. *Drug Alcohol Depend*, v.51, p.13-22, 1998.
- YOSHIMOTO, K.; UEDA, S.; KATO, B.; TAKEUCHI, Y.; KAWAI, Y.; NORITAKE, K.; YASUHARA, M. Alcohol enhances characteristic releases of dopamine and serotonin in the central nucleus of the amygdala. *Neurochem Int*, v.37, p.369-376, 2000.
- YOUNG, S.N.; LEYTON, M. The role of serotonin in human mood and social interaction. Insight from altered tryptophan levels. *Pharmacol Biochem Behav*, v.71, p.857-865, 2002.
- ZANGEN, A.; NAKASH, R.; YADID, G. Serotonin-mediated increases in the extracellular levels of beta-endorphin in the arcuate nucleus and nucleus accumbens: a microdialysis study. *J Neurochem*, v.73, p.2569-2574, 1999.
- ZHUANG, X.; GROSS, C.; SANTARELLI, L.; COMPAN, V.; TRILLAT, A.C.; HEN, R. Altered emotional states in knockout mice lacking 5-HT<sub>1A</sub> or 5-HT<sub>1B</sub> receptors. *Neuropsychopharmacology*, v.21, p.52S-60S, 1999.
- ZOHAR, J.; WESTENBERG, H.G. Anxiety disorders: a review of tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, v.403, p.39-49, 2000.