



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ - UECE

SARAH DE SOUZA ESCUDEIRO

**EFEITOS AGUDOS DA ASSOCIAÇÃO DE ETANOL E
AMINOFILINA EM TESTES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICOS EM CAMUNDONGOS**

FORTALEZA
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

SARAH DE SOUZA ESCUDEIRO

**EFEITOS AGUDOS DA ASSOCIAÇÃO DE ETANOL E
AMINOFILINA EM TESTES COMPORTAMENTAIS E
NEUROQUÍMICOS EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas, da Universidade Estadual do Ceará, como requisito para obtenção do grau de mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Silvânia Maria Mendes Vasconcelos

Fortaleza-CE

2010

SARAH DE SOUZA ESCUDEIRO

**EFEITOS AGUDOS DA ASSOCIAÇÃO DE ETANOL E AMINOFILINA
EM TESTES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual do Ceará como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Fisiologia.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará

Prof^a. Dr^a. Danielle Silveira Macêdo
Universidade Federal do Ceará

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Sampaio Assreuy
Universidade Estadual do Ceará

Aos meus pais, pelo exemplo de vida, força e superação, pelo apoio incondicional aos meus projetos intelectuais e pelo carinho e amizade com que sempre me cercaram; Ao meu namorado, pela presença constante, paciência e dedicação ao nosso amor; Aos meus irmãos, pela alegria de vida, pelo companheirismo e por tudo o que representam. A todos vocês dedico mais esta vitória e o meu muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado, com sua bondade e misericórdia, e por sempre alimentar em meu ser o desejo de superação e enfrentamento do desconhecido, em busca do autoconhecimento e da vitória intelectual, me permitindo chegar até aqui.

À Prof. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos, pelos seus preciosos ensinamentos e “puxões de orelha” durante esses dois anos no Laboratório de Neurofarmacologia, e pela amizade e respeito que sempre me dedicou, contribuindo com o meu aprimoramento pessoal, intelectual e profissional.

As Profs. Drs. Danielle Silveira Macêdo e Ana Maria Sampaio Assreuy, por aceitarem o convite a que participassem da banca examinadora e por todos os conselhos e orientações no engrandecimento e enriquecimento deste trabalho.

Aos meus grandes amigos e mestres Eduardo Ribeiro e Edna Chaves, por terem me acolhido com muita confiança, como irmãos, e ensinado tudo o que sei no laboratório e pela amizade e apoio constantes durante estes anos.

Ao grande afável e imarcescível Rodrigo Guimarães Lobato, por toda a paciência e disciplina em me acompanhar e ajudar nesta jornada, contribuindo veemente para a concretização deste e de muitos outros trabalhos.

A companheira Germana Vasconcelos (Germ), por todos os divertidos momentos de confissões durante os experimentos, imprescindíveis para o êxito desta pesquisa.

Aos meus colegas de laboratório, pelo muito que me ajudaram nos experimentos, apoio indispensável no enriquecimento do meu saber prático-profissional, e pelos preciosos momentos de convivência e lanchinhos deliciosos, obrigada por me deixar fazer parte deste amálgama.

Aos meus amigos de mestrado e por toda a vida, Raquel, Carol, Rebouças, Albertina e Leidiane, por todas as horas, noites, dias e semanas de estudo e ensinamentos, pela amizade verdadeira, pelos momentos de descontração e companheirismo, pelo apoio eterno e indispensável durante essa caminhada.

Aos Professores do Mestrado, não só pelo precioso conhecimento intelectual, como também pelos necessários ensinamentos de vida transmitidos durante o curso.

Ao grande Valmor Carvalho (Valminho), por me acolher com muito carinho, e estar sempre de prontidão para ajudar na organização do laboratório e fazer aquele cafezinho.

A Vilani e Arnaldo, pela grande colaboração e ajuda no laboratório durante esta jornada.

À CAPES, pelo apoio financeiro para realização deste trabalho.

“Só se vê bem com o coração, o essencial é invisível aos olhos.”

Antoine de Saint-Exupéry

RESUMO

A ação do etanol sobre o SNC se dá sobre diversos sistemas de neurotransmissores. A aminofilina, uma metilxantina com ação estimulante sobre o SNC, é antagonista de receptores adenosínicos e utilizada no tratamento da asma e recuperação da consciência sob efeito prolongado de anestesia. Vários estudos têm relatado a interação entre a via adenosínica e os efeitos depressores do etanol. Este trabalho objetivou estudar os efeitos agudos da interação entre etanol e aminofilina em testes comportamentais e neuroquímicos em camundongos. Foram utilizados camundongos *Swiss*, machos, com peso variando entre 25-30 g. Os animais foram tratados com água destilada (controle), etanol (v.o.) ou aminofilina (i.p.). Outro grupo foi pré-tratado com etanol na dose de 2 g/kg (trinta minutos antes da administração de aminofilina nas doses de 5 ou 10 mg/kg). Trinta minutos após a administração da aminofilina ou 60 minutos após administração do etanol, os animais foram submetidos aos testes comportamentais de campo aberto (atividade locomotora), suspensão da cauda e nado forçado (testes de efetividade antidepressiva). Após os testes os animais foram decapitados e tiveram seus cérebros dissecados sobre gelo. O córtex pré-frontal (CPF) foi utilizado para dosagem de monoaminas e seus metabólitos (norepinefrina, dopamina, DOPAC). Para avaliar o papel neuroprotetor das drogas estudadas, os animais foram decapitados e o CPF, hipocampo (HC) e corpo estriado (CE) foram dissecados e homogeneizados em tampão fosfato, para determinação de TBARS e catalase. No presente estudo, o etanol (2 g/kg) demonstrou um efeito depressor, como indicado por uma redução no número de cruzamentos e “rearing” no teste do campo aberto, e pelo aumento do tempo de imobilidade nos testes de depressão. Por outro lado, a aminofilina mostrou um efeito estimulante, apresentando características opostas às observadas nos grupos tratados com etanol em quase todos os parâmetros observados. Além disso, o efeito depressor produzido pelo etanol foi seguido por uma redução nas concentrações de norepinefrina e dopamina no CPF, sendo tal efeito revertido no grupo de associação, na menor dose. O etanol causou estresse oxidativo, aumentando a peroxidação lipídica e atividade da catalase. Já a aminofilina apresentou um papel neuroprotetor, uma vez que reduziu estes parâmetros, quando administrada após o etanol nas três áreas testadas. A administração de aminofilina após o tratamento com etanol é capaz de bloquear a redução da atividade exploratória e efeitos depressores produzidos pelo etanol, provavelmente agindo através de vias noradrenérgicas e dopaminérgicas no córtex pré-frontal, além de diminuir o estresse oxidativo induzido por uma alta dose de etanol, sugerindo um novo alvo para o bloqueio dos efeitos depressores e oxidantes do etanol.

Palavras - chave: Etanol, Aminofilina, Adenosina

ABSTRACT

Ethanol effects in central nervous system (CNS) are due to its action in several neurotransmitter systems, changing the existing balance in inhibitory and excitatory pathways. Aminophylline, a methylxanthine with stimulant action, is an adenosine receptor antagonist, and actually used in treatment of asthma and consciousness recovery after long period of anesthesia. Several studies have investigated the interaction between adenosine pathway and the depressant effects of ethanol. This study investigated the acute effects of the interaction of ethanol and aminophylline in behavioral and neurochemical test in mice. Swiss male mice, weighing 25-30 g were used. Animals were treated with distilled water (control), ethanol (p.o.) or aminophylline (i.p.). Another group was pretreated with ethanol (2 g/kg) 30 min prior to aminophylline (5 or 10 mg/kg) administration. Thirty minutes after aminophylline administration or 60 minutes after ethanol administration, animals were tested in open field (locomotor activity), tail suspension and forced swimming (antidepressant activity) apparatus. After the tests animals were sacrificed and the brains dissected. Pre-frontal cortex (CPF) was used to determine monoamine and its metabolites concentration (NE, DA, DOPAC). To evaluate the neuroprotective effect of the drugs studied, animals were dissected and CPF, hippocampus (HC) and striatum (CE) homogenized with phosphate buffer to determine TBARS and catalase activity. In the present study, ethanol showed a depressant effect, as indicated by the reduction in squares crossed and rearing in open field test, and the increase in the immobility time in both testes to evaluate antidepressant activity. On the other hand, aminophylline showed a stimulant effect, presenting opposite features in almost all parameters observed in groups treated with ethanol. Indeed, depressive effect induced by ethanol was followed by a reduction in NE and DA concentrations in CPF, being this effect reversed by the association group. Ethanol promoted oxidative stress, rising lipid peroxidation and catalase activity. On the other hand, aminophylline showed a neuroprotective effect, reducing these parameters when administered after ethanol in all three areas tested. Aminophylline administration after ethanol treatment is able to block the reduction in exploratory and depressant activities induced by ethanol, probably acting through noradrenergic and dopaminergic pathways in CPF, beyond reduce the oxidative stress induced by ethanol, suggesting a new target for the blockade of ethanol depressant and oxidant effects.

Keywords: Ethanol, Aminophylline, Adenosine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular do etanol.....	19
Figura 2 - Metabolização do etanol.....	20
Figura 3 - Estrutura molecular da adenosina.....	24
Figura 4 - Distribuição dos receptores da adenosina de alta afinidade.....	26
Figura 5 - Estrutura molecular da aminofilina.....	31
Figura 6 - Estrutura das xantinas.....	32
Figura 7 - Desenho experimental dos testes comportamentais.....	40
Figura 8 - Aparato para teste do campo aberto.....	41
Figura 9 - Aparato para teste de suspensão de cauda.....	42
Figura 10 - Aparato para teste de nado forçado.....	43
Figura 11 - Aparelho de HPLC.....	44
Figura 12 - Efeito do tratamento agudo de etanol e aminofilina na atividade locomotora de camundongos.....	47
Figura 13 - Avaliação da atividade antidepressiva da associação de etanol e aminofilina no teste de suspensão de cauda.....	48
Figura 14 - Avaliação da atividade antidepressiva da associação de etanol e aminofilina no teste de nado forçado.....	49
Figura 15 - Efeitos do etanol sozinho ou associado com aminofilina nos níveis de monoaminas no córtex pré-frontal de camundongos.....	51
Figura 16 - Peroxidação lipídica no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos tratados com etanol sozinho ou associado com aminofilina.....	53
Figura 17 - Atividade da catalase no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos tratados com etanol e aminofilina.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Teor de Álcool das bebidas.....	17
Tabela 2 - Concentração de álcool e seus efeitos no trânsito.....	21

LISTA DE SIGLAS

5-HT – serotonina

ABDETRAN - Associação Brasileira de Educação de Trânsito

ACh - acetilcolina

ADH - álcool desidrogenase

AMP - adenosina monofosfato

ASP - aspartato

ATP - adenosina trifosfato

CCPA - 2-cloro-N6-ciclopentiladenosina

CE - corpo estriado

CEBRID – Centro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas do Departamento de Psicobiologia da Universidade Federal do São Paulo

CEUA – Comitê de Ética para Uso de Animais

CO₂ - dióxido de carbono

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CPF - córtex pré-frontal

CTB – código de trânsito brasileiro

cGMP - guanina monofosfato cíclica

DA - dopamina

DBXRM - 1,3-dibutilxantina-7-riboside-5'-N-metilcarboxamida

DETRAN-CE – Departamento de Trânsito do Ceará

DMPX - 3,7-Dimetil-1-propargilxantina

DOPAC - ácido 3, 4-dihidroxifenilacético

DPCPX - 8-ciclopentil-1,3-dipropilxantina

DPOC - doença pulmonar obstrutiva crônica

EO – estresse oxidativo

GABA - ácido gama-amino-butírico

GABA_A - receptores ionotrópicos de cloro

GAT-1 – transportador de GABA

GLN – glutamina

GMPc - Guanosina monofosfato cíclico

Glu - glutamato

H₂O - água

HC - hipocampo

HClO₄ - ácido perclórico

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Performance

HVA - ácido homovanílico

IP3 - inositol-trifosfato

MDA – malonildialdeído

MRS 1191 – 3-etil-5-benzil-2-metil-6-fenil-4-feniletinil-1,4-(±)-diidropiridina-3,5-dicarboxilato

NE - norepinefrina

NMDA - N-metil-D-aspartato

OMS – Organização Mundial de Saúde

PDE – Fosfodiesterase

ROS – espécies reativas de oxigênio

SOD – superóxido dismutase

SMOE - Sistema Microssomal de Oxidação do Etanol

SNC - sistema nervoso central

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TYR - tirosina

UECE - Universidade Estadual do Ceará

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE SIGLAS.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Etanol.....	17
1.1.1 Propriedades farmacológicas.....	18
1.1.2 Atividade farmacológica.....	20
1.1.3 Ações do etanol sobre os sistemas de neurotransmissores.....	22
1.2 Adenosina.....	24
1.2.1 Tipos de receptores.....	25
1.2.2 Ação da adenosina sobre os sistemas de neurotransmissores.....	26
1.2.3 Adenosina e processos comportamentais e neurodegenerativos.....	28
1.2.4 Interação entre adenosina e etanol.....	29
1.3 Aminofilina.....	30
1.3.1 Xantinas.....	31
1.3.2 Indicações.....	32
1.3.3 Mecanismos de ação propostos da aminofilina.....	33
1.3.4 Efeitos colaterais.....	34
1.4 Estresse oxidativo.....	35
2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	37
3 OBJETIVOS.....	38
3.1 Gerais.....	38
3.2 Específicos.....	38
4 METODOLOGIA.....	39
4.1 Animais.....	39
4.2 Preparo das Drogas.....	39
4.3 Tratamento dos Grupos Experimentais.....	39
4.4 Estudo Comportamental.....	41
4.4.1 Teste de campo aberto.....	41
4.4.2 Teste de suspensão da cauda.....	41
4.4.3 Teste do nado forçado.....	42
4.5 Estudo Neuroquímico.....	43
4.6 Estudo do potencial neuroprotetor.....	44
4.6.1 Medida dos níveis de peroxidação lipídica.....	44
4.6.2 Dosagem de catalase.....	45
4.7 Análise Estatística.....	45
5 RESULTADOS.....	46
5.1 Estudo Comportamental.....	46
5.1.1 Teste de campo aberto.....	46
5.1.2 Teste de suspensão da cauda.....	48
5.1.3 Teste do nado forçado.....	49

5.2 Estudo Neuroquímico	50
5.3 Estudo do potencial neuroprotetor.....	52
5.3.1 Níveis de peroxidação lipídica (TBARS).....	52
5.3.2 Avaliação da atividade de catalase.....	54
6 DISCUSSÃO	56
7 CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

O álcool, talvez, seja a droga mais antiga utilizada pela espécie humana, havendo vestígios da sua existência desde períodos paleolíticos (WESTERMEYER, 1991). No Egito e na Assíria, festas de veneração aos deuses da agricultura culminavam em bebedeiras coletivas que duravam dias seguidos. Conforme os Egípcios, o Deus Osíris teria ensinado os homens a cultivar a videira e a cevada para a fabricação de bebidas capazes de “inspirar a alma” (FERNANDES & FERNANDES, 2002).

O uso indiscriminado do álcool, por seu fácil acesso acarreta conseqüências físicas e sociais. Os dados epidemiológicos da Organização Mundial de Saúde (OMS) informam que o consumo de álcool é responsável por cerca de 1,8 milhões de mortes por ano (SEITZ & STICKEL, 2007). Em 2005, aproximadamente 40% das mortes em acidentes de trânsito nos Estados Unidos estavam relacionadas ao uso de álcool (NHTSA, 2006).

No Brasil, em 2006, ocorreram 14.664 óbitos relacionados ao consumo de bebida alcoólica, o que representa 1,5% do total de mortes no país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). Segundo Laranjeira (2007), os levantamentos realizados nas diferentes regiões do Brasil, afirma que 52% dos brasileiros acima de 18 anos bebem, pelo menos, uma vez ao ano. Entre os homens, essas proporções são de 65%, e entre as mulheres, 41%. Na outra ponta, estão os 48% de brasileiros considerados abstinentes, que nunca bebem ou que bebem menos de duas vezes por ano.

O valor terapêutico do etanol é muito limitado e sua ingestão, seja em nível agudo e/ou crônico, está associada a numerosos efeitos fisiológicos adversos nos diferentes sistemas orgânicos, além do próprio sistema nervoso central (SNC) (SCHUCKIT, 2005). Necessita-se assim conhecer melhor os efeitos dessa substância desde sua ingestão até atuação sobre o organismo, ou seja, sua farmacocinética e farmacodinâmica.

1.1 Etanol

O etanol é um composto químico que pertence ao grupo dos álcoois. Pelo fato de seu consumo ser bastante generalizado, essa droga tornou-se a mais conhecida deste grupo, adquirindo vulgarmente a sua denominação genérica, ou seja, etanol e álcool são considerados sinônimos (GUTIÉRREZ & CANO, 1978).

Segundo Lima (2003), o percentual de etanol nas bebidas alcoólicas em geral varia entre 4-5% na cerveja, 12-14% nos vinhos e acima de 40% nas bebidas destiladas, e, com relação ao teor alcoólico, qualquer que seja a bebida, a quantidade de álcool puro por dose padrão é a mesma, ou seja, a idéia de que, por exemplo, a cerveja é uma bebida leve, apresentando menos álcool puro, é incorreta, já que qualquer bebida contém a mesma quantidade de álcool puro por dose padrão (Tabela 1).

Tabela 1 - Teor de Álcool das Bebidas

Tipo de Bebida	Teor Alcoólico	Dose Padrão	Quantidade por Dose Padrão	Quantidade de Álcool Puro por d.p. (gr./ álcool)	Taxa de álcool no Sangue /litro (Alcoolemia)
Cerveja	4 - 5 %	1 lata	350 ml	10 a 12 gr	0,2 gr/l
Vinho	12-14 %	1 taça	150 ml	10 a 12 gr	0,2 gr/l
Cachaça	40-50 %	1 dose	40 ml	10 a 12 gr	0,2 gr/l

Fonte: Lima (2003).

Em cinco meses de fiscalização, o DETRAN-CE notificou 1.127 motoristas conduzindo veículos com álcool no sangue, com base na lei 11.705, a lei de alcoolemia zero no trânsito, no período de 4 de julho a 14 de dezembro de 2009. Nesse período, foram realizados 16.320 testes com bafômetros. As cidades com maiores índices de notificação segundo o DETRAN foram: Fortaleza (54 pessoas notificadas); Juazeiro do Norte (28) e Crato (11).

Há dois tipos de autuações que os motoristas podem receber: a administrativa e por crime de trânsito. A autuação administrativa ocorre quando o resultado do teste do bafômetro acusar de 0,11 a 0,29 miligramas de álcool por litro de ar expelido pelos pulmões. E a autuação é por crime de trânsito quando o

resultado do teste do bafômetro indicar igual ou acima de 0,30 miligramas de álcool por litro de ar expelido pelos pulmões (DETRAN, 2009).

1.1.1 Propriedades Farmacológicas

- Absorção

Após administração oral, o etanol leva de 5 a 10 minutos para chegar na corrente sanguínea, ou seja, essa substância é absorvida rapidamente e isso ocorre a partir da mucosa gástrica, apesar de sua maior absorção ocorrer principalmente na porção inicial do intestino delgado (MOURA, 2001; GOODMAN & GILMAN, 2006). Como a absorção preferencial é em nível duodenal, fatores relacionados ao esvaziamento gástrico (por exemplo, a presença de alimentos) podem influenciar na velocidade e grau de absorção dessa substância. Além disso, Jungnickel (2001) apresenta também como fator limitante à absorção a concentração de etanol na bebida, afirmando que acima de 30% ocorreria vasoconstrição da mucosa gastrointestinal, dificultando e atrasando o processo.

Em condições normais, cerca de metade da dose ingerida é absorvida dentro dos primeiros 15 minutos e, após 1 hora, a droga já atinge 95% do total de sua absorção, ou seja, a concentração sérica máxima é atingida geralmente entre 30 a 90 minutos após ingestão oral (MOURA, 2001).

- Distribuição

O etanol é uma molécula (Figura 1) de peso relativamente baixo e de fácil dissolução em água, devido a sua estrutura química permitir a formação de pontes de hidrogênio, por isso sua difusão através das membranas biológicas procede-se de modo rápido. Sua concentração nos tecidos é proporcional ao conteúdo em água destes, além disso a velocidade de acumulação é determinada pelo fluxo sanguíneo, processando-se assim rapidamente em órgãos com irrigação abundante, como o encéfalo (MOURA, 2001; FIGUEIRA, 2002).

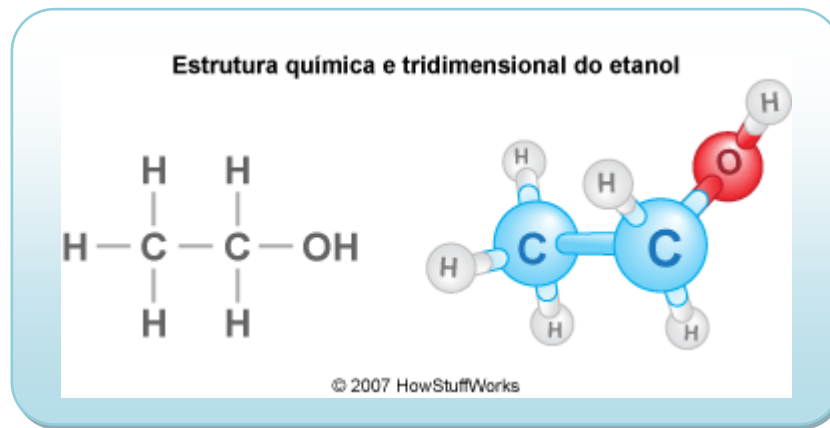


Figura 1: Estrutura molecular do Etanol (Fonte: HowStuffWorks)

- **Metabolismo**

A metabolização do etanol ocorre em duas fases (Figura 2):

- Primeira fase → a enzima responsável pelo início dessa metabolização é a álcool desidrogenase (ADH), a qual se encontra na mucosa gástrica e no fígado, dando origem no citoplasma dessas células ao aldeído acético (JUNGNICKEL, 2001; GOODMAN & GILMAN, 2006; EDENBERG, 2007).

Apesar da via da álcool desidrogenase ser preferencial na fase inicial do uso do etanol, elevadas concentrações séricas dessa substância ou o seu consumo crônico podem ativar outras vias metabólicas como a catalase binária, associada aos peroxissomos, e o Sistema Microsomal de Oxidação do Etanol (SMOE), localizado no retículo endoplasmático liso e que envolve o sistema do citocromo P450, o qual participa também da metabolização de outros fármacos, como por exemplo os antidepressivos tricíclicos. Ou seja, o etanol pode competir pelo mesmo sistema de oxidação enzimática, reduzindo em geral a metabolização de outros fármacos (STOCKLEY, 2000; FIGUEIRA, 2002; GOODMAN & GILMAN, 2006).

- Segunda fase → nessa fase ocorre a conversão do aldeído acético em ácido acético, na mitocôndria, através da aldeído desidrogenase. Após esse processo, o ácido acético é finalmente oxidado em dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O) através do ciclo de Krebs (JUNGNICKEL, 2001; FIGUEIRA, 2002; EDENBERG, 2007).

Embora permaneça por pouco tempo no organismo até ser convertido em acetato, o aldeído acético é potencialmente tóxico, podendo gerar danos teciduais (ZAKHARI, 2006). Algumas pesquisas apontam o aldeído acético como responsável por certos efeitos comportamentais e fisiológicos atribuídos ao etanol, como falta de coordenação e deterioração da memória (DEITRICH *et al.*, 2006; QUERTEMONT & DIDONE, 2006).

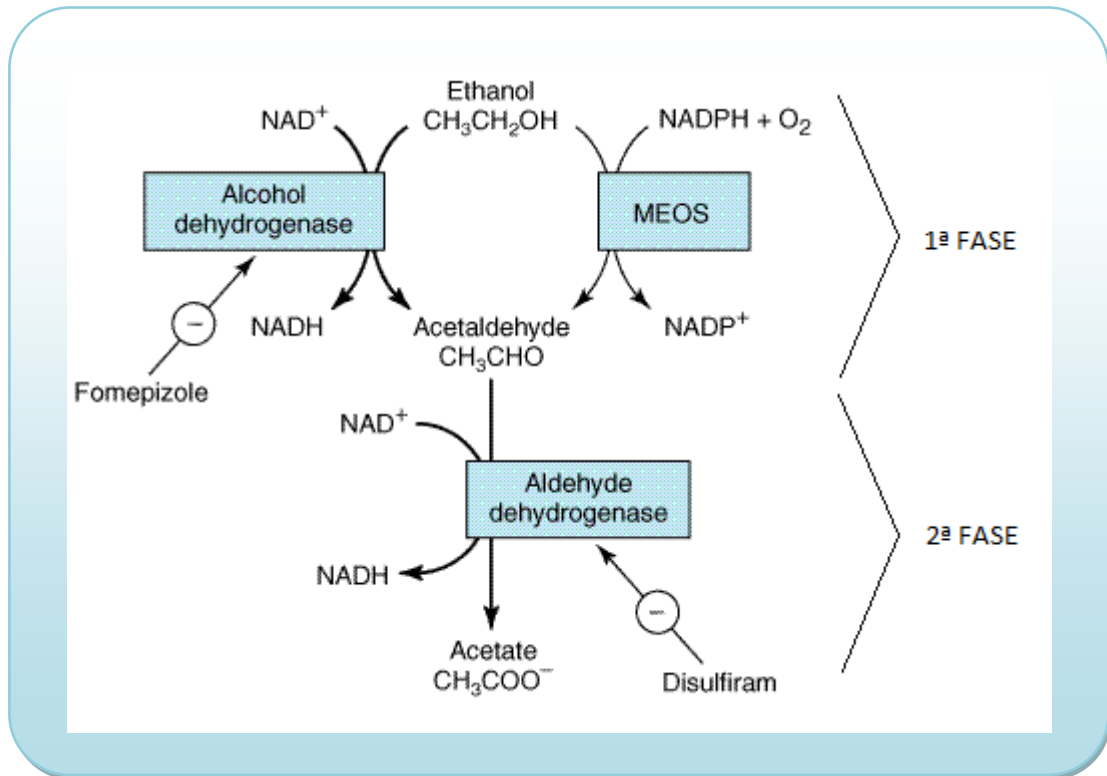


Figura 2: Metabolização do etanol (Fonte: Katzung, 2010)

- **Eliminação**

Apesar da grande maioria do etanol absorvido sofrer metabolização de primeira passagem (nível hepático), aproximadamente 90%, uma pequena parte é eliminada sob forma inalterada pelas vias renal, epitelial e pulmonar (MOURA, 2001; FIGUEIRA, 2002; GOODMAN & GILMAN, 2006).

1.1.2 Atividade Farmacológica

O etanol apresenta influência em diversos sistemas e órgãos. Entretanto, no presente trabalho será descrito somente os efeitos depressores dessa droga

sobre o SNC. Embora o etanol em baixas doses apresente caráter excitatório, ele é de fato um depressor do SNC, apresentando efeito dose dependente. Ou seja, apesar de quantidades moderadas de etanol levarem à produção de ações ansiolíticas e desinibição comportamental, doses maiores levam a sedação, podendo progredir para um estado de inconsciência, coma, depressão respiratória e morte (MOURA, 2001; GOODMAN & GILMAN, 2006, LIMA, 2003). Além disso, as diferentes dosagens de álcool no sangue podem comprometer o desempenho do indivíduo ao dirigir, como é mostrado na tabela 2.

Tabela 2 - Concentração de álcool e seus efeitos no trânsito.

NÍVEIS DE EMBRIAGUEZ	
TAXAS DE ÁLCOOL	EFEITOS NO MOTORISTA
De - 0,2-0,3g/l	As funções mentais começam a ficar comprometidas, percepção da distância e velocidade prejudicadas.
De - 0,3-0,5g/l	O grau de vigilância e o campo visual diminuem e o controle cerebral relaxa.
De - 0,51-0,8g/l	Reflexo retardado dificuldade de adaptação à diferença de luminosidade, superestimação das possibilidades, subestimação dos riscos e tendência à agressividade.
De - 0,8-1,5g/l	Dificuldade de controlar o veículo, incapacidade de coordenação e falhas de coordenação neuromuscular.
De - 1,5-3g/l	Embriaguez, topor alcóolico de dupla visão.
De - 3-5 g/l	Embriaguez profunda.

Fonte: ABDETRAN (2008)

Pelo novo código de trânsito brasileiro (CTB), a pessoa só é considerada alcoolizada se estiver com uma taxa a partir de 0,6 gramas de álcool por litro de sangue. A nova regulamentação prevê que infratores que dirigem sob influência do álcool e expõem terceiros a riscos ou provocam acidentes de trânsito estão cometendo crime e a pena varia de 6 meses a 3 anos de prisão (DETRAN, 2009).

A ação do etanol no SNC se dá pela atuação dessa droga sobre diversos sistemas de neurotransmissores, alterando o balanço existente entre as vias inibitórias e excitatórias, quer dizer, ele pode tanto potencializar a neurotransmissão inibitória quanto antagonizar a neurotransmissão excitatória (MOURA, 2001; FIGUEIRA, 2002; GOODMAN & GILMAN, 2006; VASCONCELOS *et al.*, 2004).

Além disso, algumas regiões cerebrais são mais sensíveis aos efeitos da administração aguda de etanol, como córtex frontal, hipocampo e corpo estriado, dentre outras (VILPOUX *et al.*, 2009). Estas áreas também estão relacionadas a comportamentos como julgamento racional, memória e movimento, que são alterados com a ingestão de etanol.

1.1.3 Ações do Etanol sobre os Sistemas de Neurotransmissores

- Sistema GABAérgico

O principal mediador da neurotransmissão inibitória é o ácido gama-amino-butírico (GABA) no SNC de vertebrados (McKERNAN & WHITING, 1996) e o etanol atua sobre receptores GABAérgicos potencializando esse efeito inibitório, através de sua ação agonista sobre receptores ionotrópicos de cloro (GABA_A), levando a uma hiperpolarização celular e inibição da mesma.

- Sistema Glutamatérgico

Nesse sistema o etanol atua inibindo a habilidade do glutamato em abrir canais de cátions associados ao receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), causando assim efeito depressor em doses superiores (CARBONI *et al.*, 1993; HOFFMAN, 1995; GOODMAN & GILMAN, 2006; MASTERS, 2006). Contudo, Vasconcelos *et al.* (2008), ao determinar a concentração de aminoácidos em corpo estriado de ratos após administração crônica de etanol sozinho ou associado ao antagonista glutamatérgico (cetamina), verificaram que ocorre aumento da concentração de glutamato no corpo estriado, provavelmente pela regulação para cima (*up regulation*) de receptores NMDA. A inibição neuronal destes receptores, através de administração local de etanol, também pode ser observada no colículo inferior e hipocampo, mas não no septo lateral, podendo haver dois tipos de receptores NMDA, sensível ao etanol e insensível ao etanol (SIMSON *et al.*, 1993).

- Sistema Dopaminérgico

O sistema dopaminérgico tem um papel crucial no desenvolvimento da dependência de várias substâncias psicoativas, como opiáceos, cocaína, nicotina e etanol (KOOB & LE MOAL, 2001; LINGFORD-HUGHES & NUTT, 2003; MUNAFÒ *et al.*, 2001). Este sistema influencia o mecanismo de recompensa cerebral (DICK & FOROUD, 2003; TUPALA & TIIHONEN, 2004) e é considerado um forte candidato para desencadear a dependência ao álcool. Através da estimulação de receptores dopaminérgicos, o etanol promove a liberação de dopamina no corpo estriado, levando a um aumento no consumo de etanol (KIENAST & HEINZ, 2006).

- Sistema Serotonérgico

A serotonina (5-HT) é um neurotransmissor do SNC o qual está envolvido com funções de aprendizado, memória, ansiedade, estado motivacional, resposta ao álcool e outras drogas (STAHL, 1998). Encontra-se também implicada na etiologia de várias doenças, tendo a depressão como um exemplo (CORDÁS, 2002).

A exposição ao álcool altera vários aspectos das vias serotonérgicas, refletindo principalmente em uma intensificação nas sinapses envolvendo a 5-HT, verificada pelo aumento dos níveis dos metabólitos serotonérgicos na urina e no sangue (Le MARQUAND *et al.*, 1994) em nível agudo.

Em experimento com ratos, Ding *et al.* (2009), observaram que os efeitos reforçadores do etanol na área tegmentar ventral são modulados pela ativação de receptores serotonérgicos do tipo 2A.

- Sistema Noradrenérgico

A administração aguda de etanol produz um efeito bifásico na liberação de norepinefrina (NE): doses baixas levam a um aumento na liberação, tendo uma resposta inversa em doses maiores (ROSSETTI *et al.*, 1992). No entanto, Huttunen (1991) demonstra em estudos cerebrais que o tratamento crônico do etanol resulta em um aumento na liberação das catecolaminas em geral.

- Outras vias de ação

O etanol, além de atuar sobre os neurotransmissores acima referidos, pode influenciar também várias outras vias e locais do SNC mediante diversos mecanismos farmacológicos, muitos deles ainda não esclarecidos (DAHCHOUR &

DE WITTE, 2000; FIGUEIRA, 2002). Uma via relevante para estudo dos efeitos depressivos induzidos pelo etanol, ou mesmo reversão destes, seria o sistema da adenosina em nível central. Fredholm *et al.* (2005) realizaram uma revisão sobre a adenosina e seus receptores, e identificaram uma relação da adenosina com a depressão do SNC em testes específicos como nado forçado e suspensão de cauda, justificando a escolha da aminofilina, provável antagonista de receptores de adenosina para o estudo do problema proposto: reversão dos efeitos depressores induzidos pelo etanol.

1.2 Adenosina

A adenosina (Figura 3) é uma purina com ação neuromoduladora nas transmissões sinápticas no SNC, formada a partir da união de uma base púrica e uma D-ribose (CUNHA, 2001; EL YACOUBI *et al.*, 2001; SAWYNOK & LIU, 2003).

É sintetizada a partir da adenosina trifosfato (ATP), via enzimas 5'-endonucleotidase e 5'-ectonucleotidase, e é metabolizada pela adenosina quinase e adenosina deaminase em adenosina monofosfato (AMP) e inosina (SAWYNOK & LIU, 2003). Ao contrário do ATP, a adenosina é encontrada de forma livre no citosol, sendo transportada por um transportador de membrana bidirecional na superfície da célula. É rapidamente destruída ou recaptada após administração intravenosa, e pode ser liberada quando a integridade do tecido é ameaçada, reduzindo a função celular para minimizar as necessidades metabólicas da célula (RANG *et al.*, 2007). O nível extracelular de adenosina depende da taxa de hidrólise do ATP tanto de neurônios quanto de células gliais, e no repouso é de aproximadamente 30 a 300 nM (IMPAGNATIELLO *et al.*, 2000).

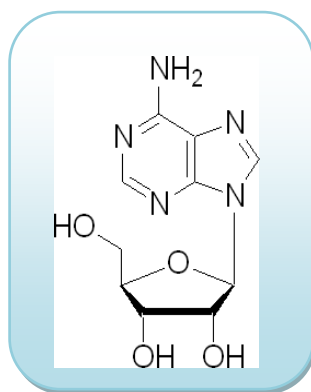


Figura 3: Estrutura molecular da adenosina (Fonte: Sigma Aldrich)

1.2.1 Tipos de Receptores

Agonistas adenosínicos agem através de quatro tipos de receptores (A_1 , A_{2a} , A_{2b} , A_3) clonados e bem caracterizados em várias espécies. Receptores adenosínicos são do tipo metabotrópico (FREDHOLM *et al.*, 2001). Os receptores A_1 e A_3 atuam através da ligação à proteína-G inibitória, reduzindo as concentrações de AMPc, enquanto os receptores A_{2a} e A_{2b} ligam-se a proteína-G estimulatória, aumentando os níveis de cAMP (LINDEN, 2001). Contudo, os receptores adenosínicos são fundamentalmente receptores pleiotrópicos, podendo acoplar-se a diferentes proteínas-G e sistemas de transdução, de acordo com o grau de ativação e localização celular (FREDHOLM *et al.*, 2005).

A distribuição dos receptores adenosínicos abrange vários tecidos e órgãos, incluindo coração, músculo liso, rins, adipócitos, pulmão, assim como no sistema nervoso central e autônomo (BURNSTOCK, 2007; WILLIAMS, 2002).

O receptor A_1 é o mais abundante e está amplamente distribuído no SNC, sendo mais expresso no hipocampo, córtex motor, cerebelo e corno dorsal da medula espinhal. A localização dos receptores A_{2a} é mais expressa no corpo estriado, núcleo accumbens e tubérculo olfatório, podendo ocorrer também, em baixos níveis, no hipocampo, enquanto o receptor A_{2b} é distribuído de forma mais homogênea pelo SNC, porém, em menor quantidade e com discreta variabilidade na afinidade a antagonistas adenosínicos em diferentes espécies (BURNSTOCK, 2007; ROSIN *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2003; THORSELL *et al.*, 2007; AUCHAMPACH *et al.*, 2009).

O receptor A_3 , que foi o primeiro receptor purinérgico do tipo P1 identificado por clonagem em vez de caracterização farmacológica, também está associado ao aumento intracelular de inositol-trifosfato (IP3), e é encontrado em baixos níveis no cérebro. Receptores A_3 em humanos, mas não em ratos, são bloqueados seletivamente por xantinas, como a *1,3-dibutylxanthine-7-riboside-5'-N-methylcarboxamide* (DBXRM), e não-xantinas, como *3-ethyl 5-benzyl 2-methyl-6-phenyl-4-phenylethynyl-1,4-(±)-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate* (MRS 1191) (JACOBSON, 1998).

Os receptores A_1 e A_{2a} são caracterizados por possuir maior afinidade pela adenosina, enquanto A_{2b} e A_3 mostram menor afinidade. Contudo, baixos níveis de adenosina agem preferencialmente em A_1 , enquanto altos níveis agem

preferencialmente em receptores A_{2a} (ROMANOWSKA & KOMOSZYŃSKI, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2003; GUNDLFINGER *et al.*, 2007). Segundo Cunha (2005), o efeito da adenosina no cérebro se dá em grande parte pelo controle pré-sináptico da liberação de neurotransmissores, e, devido a maior densidade de receptores A_1 , o efeito predominante da adenosina no cérebro é a inibição da liberação de neurotransmissores.

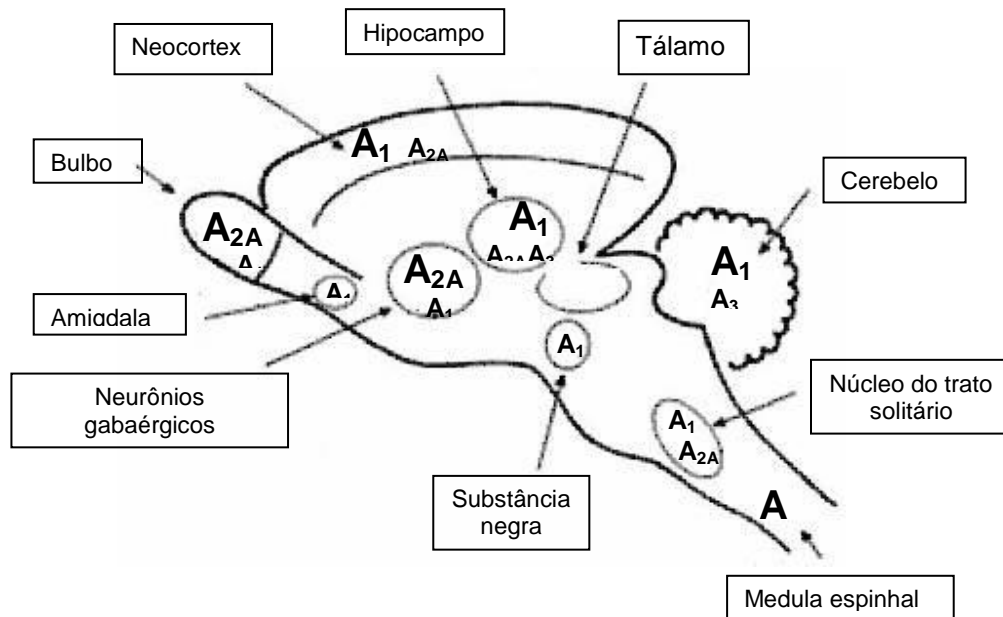


Figura 4 - Distribuição dos receptores da adenosina de alta afinidade (A_1 , A_{2A} e A_3), na maioria das regiões do SNC onde a adenosina provavelmente interfere nas disfunções cerebrais e nas doenças. Altos níveis de expressão estão indicados por letras maiores. (RIBEIRO *et al.*, 2003).

1.2.2 Ação da adenosina sobre os sistemas de neurotransmissores

Segundo Cunha (2005), a adenosina pode atuar como modulador homeostático ou neuromodulador a nível sináptico, sendo esta última ação conferida por um balanço entre a ativação de receptores inibitórios A_1 e, em maior parte, pela ação facilitatória dos receptores A_{2a} . A adenosina, em sua função homeostática foi, também, conceituada como um metabólito retaliatório, visto que é gerada em resposta a danos teciduais (pelo aumento da hidrólise do ATP) para combatê-los (NEWBY, 1984).

A ação da adenosina sobre a função neuronal foi primeiramente mencionada por Drury e Szent-Györgyi (1929), e descrita como um potente

depressor da atividade neuronal por Dunwiddie e Haas (1985). Através do receptor A_1 , a adenosina age pré-sinápticamente inibindo a liberação de DA, GABA, glutamato (Glu), acetilcolina (Ach), 5-HT e NE (MASINO & DUNWIDDIE, 2001; BRAND *et al.*, 2001).

- Sistema gabaérgico X adenosina

Muitos estudos enfocam a ação dos receptores A_{2a} apenas nos gânglios da base, porém, em outros locais, receptores A_{2a} agem pré-sinápticamente facilitando a liberação de neurotransmissores, como GABA, promovendo efeito inibitório (CUNHA, 2005). Ativação de receptores A_{2a} também facilitam o transporte de GABA pelo Transportador de GABA 1 (GAT-1) nas terminações nervosas no hipocampo (CRISTÓVÃO-FERREIRA *et al.*, 2009).

- Sistema glutamatérgico X adenosina

A adenosina é um importante modulador da neurotransmissão glutamatérgica estriatal. A ativação de receptores A_{2a} reduz as correntes excitatórias promovidas pelo receptor NMDA, resultando em inibição (FREDHOLM *et al.*, 2001; WIRKNER *et al.*, 2004), enquanto receptores A_1 inibem pré-sinápticamente a liberação de glutamato (BRAND *et al.*, 2001). Entretanto, segundo Rodrigues *et al.* (2005), a ativação de receptores A_{2a} , localizados nas terminações nervosas glutamatérgicas do estriado, pode acentuar a liberação de glutamato.

- Sistema dopaminérgico X adenosina

No estriado, receptores adenosínicos A_1 encontram-se co-localizados com receptores dopaminérgicos D1, assim como receptores A_{2a} com D2, onde há uma relação antagônica de ativação, na qual a estimulação de D2 provoca a redução da afinidade do agonista adenosínico ao receptor A_{2a} , e vice-versa (FUXE *et al.*, 2005; CIEŚLAK *et al.*, 2008). Este complexo heteromérico de receptores A_{2a} -D2 está principalmente localizado em neurônios gabaérgicos (FERRÉ *et al.*, 2005).

- Sistema noradrenérgico

Estudos demonstram que a adenosina reduz a taxa de disparo espontâneo em 88% do *locus coeruleus*, e em alguns neurônios também causa hiperpolarização

da membrana. Tais efeitos da adenosina são dose-dependente e antagonizados pela teofilina (SHEFNER & CHIU, 1986). Segundo Taylor e Stone (1980), a adenosina pode agir tanto pré-sinápticamente para inibir, e pós-sinápticamente para potencializar os efeitos da ativação de neurônios noradrenérgicos.

1.2.3 Adenosina e processos comportamentais e neurodegenerativos

Agonistas A_{2a} tem sido propostos como potenciais agentes terapêuticos para esquizofrenia (WARDAS, 2008) e outros transtornos psicóticos (FREDHOLM *et al.*, 2005). Além disso, o sistema adenosinérgico apresenta atividade ansiolítica, e, antagonistas como a teofilina e a cafeína mostram-se ansiogênicas (KULKARNI *et al.*, 2007). Os efeitos da cafeína no SNC parecem ser mediados principalmente por suas ações antagonistas em receptores A_1 e A_{2a} (PREDIGER, 2005a). Animais *knockout* para receptores A_1 e A_{2a} , também apresentam comportamento ansiogênico, o que reforça a efetividade dos receptores adenosínicos na modulação da ansiedade (GIMÉNEZ-LLORT *et al.*, 2002; BILBAO, 2006).

El Yacoubi *et al.* (2003), descrevem a relação de receptores adenosínicos no controle da depressão, visto que, antagonistas adenosínicos apresentam efeito antidepressivo, reduzindo o tempo de imobilidade em testes comportamentais que avaliam a efetividade de componentes antidepressivos, como nado forçado e suspensão de cauda, sugerindo para isto, antagonistas de receptores A_{2a} .

Receptores A_{2a} são relevantes para a doença de Parkinson por sua distribuição estar amplamente atribuída ao estriado, o principal alvo dos neurônios dopaminérgicos que são degenerados na doença Parkinson (FISONE *et al.*, 2004), e por estarem co-localizados com receptores D2, havendo uma interação antagonista entre eles, onde a estimulação de D2 reduz a afinidade do agonista ao receptor A_{2a} e vice-versa (CIEŚLAK *et al.*, 2008). Assim, antagonistas adenosínicos, incluindo a cafeína compõem uma proposta terapêutica não-dopaminérgica para o tratamento da doença de Parkinson (YU *et al.*, 2006; AGUIAR *et al.*, 2006), e agonistas adenosínicos para o tratamento da esquizofrenia e adição de drogas, reduzindo a sinalização de D2 (FUXE *et al.*, 2007).

A administração de agonistas adenosínicos prejudica o aprendizado e a memória em ratos, enquanto o bloqueio não-seletivo de receptores de adenosina por teofilina ou cafeína, assim como o bloqueio seletivo de A_1 e A_{2a} , facilita o

aprendizado e a memória (CORODIMAS & TOMITA, 2001; PREDIGER, 2005a). Ainda, antagonistas seletivos de receptores de adenosina, principalmente A_{2a} , permitem proteção contra efeitos deletérios na memória em modelos experimentais de envelhecimento, Alzheimer e Parkinson (PREDIGER, 2005b; DALL'IGNA *et al.*, 2007).

Em recente estudo com humanos (MEYER *et al.*, 2007), foi demonstrado um declínio, dependente da idade, da densidade de receptores A_1 em determinadas áreas cerebrais, como corpo estriado e córtex motor. A ativação de receptores A_1 apresenta efeito anticonvulsivante, onde nesta situação, a concentração de adenosina no SNC é rapidamente elevada, e esses efeitos anticonvulsivantes são bloqueados por metilxantinas, que, quando administradas sozinhas, não apresenta efeito observável sobre a convulsão (KNUTSEN & MURRAY, 1997). Porém, em doses elevadas (acima de 100 mg/kg), as metilxantinas apresentam ação pró-convulsivante (GULATI *et al.*, 2007).

Diversos trabalhos citam o papel neuroprotetor do sistema adenosinérgico (CUNHA *et al.*, 2008; TAKAHASHI, 2008). A neuroproteção pelo bloqueio de A_{2a} promove redução da liberação de glutamato, assim como redução da ativação de micróglia e astrócitos (WARDAS, 2002), sendo mais evidente em áreas corticais.

1.2.4 Interação entre sistema de adenosina e etanol

Alguns estudos sugerem que receptores adenosínicos medeiam ações do etanol, como falta de coordenação motora e efeitos hipnóticos. Reynolds e Brien (1995) observaram em seus estudos que a ativação de receptores A_1 medeia a inibição, induzida pelo etanol, da liberação de glutamato no hipocampo. Em estudo para avaliar o potencial dos receptores A_1 e A_{2a} em reduzir o comportamento de ansiedade durante retirada aguda do etanol em camundongos, Prediger *et al.* (2006) mostraram que a administração aguda de adenosina, e do agonista seletivo para receptores A_1 2-chloro-N6-cyclopentyladenosine (CCPA), reduziu essa resposta ansiogênica. Além disso, o efeito do CCPA no comportamento de ansiedade na abstinência do etanol foi revertido pelo pré-tratamento com o antagonista seletivo de receptor A_1 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (DPCPX). Esses resultados reforçam o envolvimento dos receptores adenosínicos na modulação da ansiedade, e indicam o potencial de agonistas destes receptores para reduzir os efeitos ansiogênicos

durante a abstinência do etanol. Além disso, a deficiência de receptores A_{2a} em camundongos leva a um maior consumo de etanol, associado ao aumento da sensibilidade aos efeitos ansiolítico e estimulante sobre a locomoção do etanol e uma redução em testes de condicionamento induzida pelo etanol (HOUCHI *et al.*, 2008).

Arolfo *et al.* (2004), também sugerem que a adenosina está envolvida nos efeitos neurais e comportamentais do etanol, podendo a modulação farmacológica de receptores A_2 regular o consumo de etanol em ratos. Ainda, Thorsell *et al.* (2007), observaram que administração aguda do antagonista A_{2a} 3,7-Dimethyl-1-propargylxanthine (DMPX) reduz as respostas de reforço do etanol. Estes autores também observaram que esse tratamento também produz certo grau de estimulação locomotora, que também foi verificada por Soares *et al.* (2009) em testes comportamentais, porém utilizando o antagonista não seletivo aminofilina. Contudo, a aminofilina administrada sozinha não apresentou respostas significantes, mas, associada ao etanol reduziu o número de quedas e aumentou o tempo de permanência na barra, no teste rota rod, sugerindo bloqueio parcial da ação do etanol (SOARES *et al.*, 2009). Segundo Fillmore (2003), a administração combinada de cafeína, ou teofilina, e etanol pode aumentar o desenvolvimento de tolerância ao álcool.

1.3 Aminofilina

A aminofilina é um fármaco broncodilatador utilizado na clínica para o tratamento da asma brônquica (GOODMAN & GILMAN, 2006). O mecanismo de ação provável para sua utilização nessa enfermidade é o relaxamento da musculatura lisa brônquica, além de aumentar a depuração mucociliar, diminuir a permeabilidade microvascular da mucosa das vias aéreas e aumentar a contratilidade diafragmática (WANKE *et al.*, 1994; ROCHA & MEDEIROS FILHO, 2001).

Esse fármaco é constituído de uma mistura de aproximadamente 80% de teofilina, seu principal composto ativo, e etilenodiamina (Figura 5), compondo assim um sal de etilenodiamina da teofilina. Isso ocorre pelo fato das xantinas, especificamente a teofilina, apresentarem uma solubilidade muito baixa a qual é

melhorada pela formação de complexos salínicos (GOODMAN & GILMAN, 2006; BUENO, 2003).

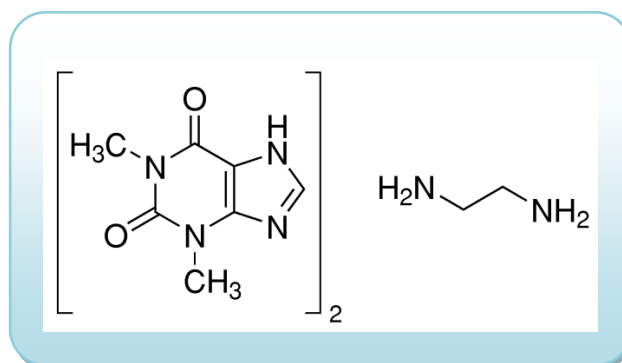


Figura 5: Estrutura molecular da aminofilina (Fonte: Sigma Aldrich)

A estrutura química básica da teofilina consiste de um anel xantina com metilações nas posições 1 (um) e 3 (três), fazendo assim parte do grupo das xantinas (ou metilxantinas) (KATZUNG, 2010).

1.3.1 Xantinas

O anel xantina é composto por dois anéis fundidos, um com seis carbonos e outro com cinco, além de conter na sua estrutura dois átomos de oxigênio, representando assim uma dioxipurina com uma estrutura química semelhante ao ácido úrico. A metilação de seus carbonos leva a origem de um grupo denominado metilxantina (ou mesmo xantinas) em que a teofilina (1,3-dimetilxantina), a paraxantina (1,7-dimetilxantina), a teobromina (3,7-dimetilxantina) e a cafeína (1,3,7-trimetilxantina) fazem parte (KATZUNG, 2010).

As xantinas são substâncias alcalóides relacionadas quimicamente e que se diferenciam pela potência na ação estimulante sobre o SNC, obedecendo a ordem de potência: teofilina > cafeína > teobromina (ALTIMARI *et al.*, 2001; GOODMAN & GILMAN, 2006). Ou seja, apesar de a utilização principal da teofilina ser na clínica da asma, uma característica bastante considerável dela é seu efeito excitatório sobre o SNC.

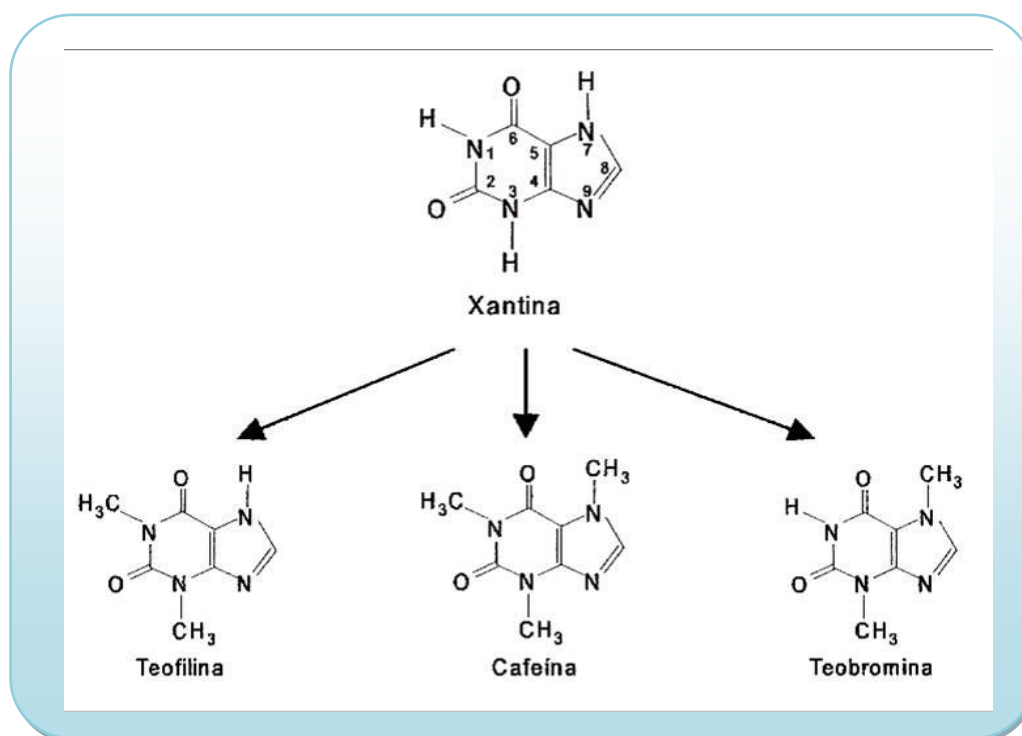


Figura 6: Estrutura das Xantinas

As vias de administração dessas drogas são bastante comuns: oral, retal e endovenosa (EJZENBERG *et al.*, 1980). Esses compostos são metabolizados no fígado pelo citocromo P450, possibilitando assim a transformação desses grupos entre si (YAMAOKA-YANO & MAZZAFERA, 1999), onde a teofilina permanece parte sob a mesma forma (50%) e parte sob a forma de 3-metilxantina, esta apresentando atividade biológica. Outros tecidos também são passíveis de realizar essa metabolização, como o cérebro e os rins (ALTIMARI *et al.*, 2001).

1.3.2 Indicações

As indicações mais comuns da aplicação da teofilina em humanos referem-se principalmente a disfunções respiratórias, como broncoespasmo, enfisema pulmonar, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), bronquite, apnéia do recém-nascido, respiração de Cheyne-Stoke, devido as suas características broncodilatadoras, imunomoduladoras e antiinflamatórias (GOODMAN & GILMAN, 2006). No entanto, a teofilina apresenta outras indicações por seu efeito estimulatório sobre o SNC, como em associação com efedrina para o tratamento da obesidade, pois apresenta resposta termogênica, aumentando a

duração das respostas adrenérgicas frente ao organismo (MANCINI & HALPERN, 2002).

Outra indicação da utilização da aminofilina é na clínica anestésica, onde a aminofilina é usada para acelerar o processo de recuperação da consciência após anestesia geral, antagonizando o efeito anestésico depressor (TURAN *et al.*, 2002), e promovendo efeito excitatório sobre o SNC.

1.3.3 Mecanismos de Ação Propostos da Aminofilina

Até hoje não se sabe ao certo o mecanismo de ação específico da teofilina sobre o organismo, contudo existem três hipóteses de ação fisiológica desse fármaco de acordo com seus efeitos corporais.

A primeira está relacionada à inibição das Fosfodiesterases (PDE) dos nucleotídeos cíclicos, uma vez que as PDE catalisam a decomposição do AMP cíclico e da guanina monofosfato cíclica (cGMP) em 5'-AMP e 5'-GMP, respectivamente, nas células inflamatórias (eosinófilos, neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, mastócitos e linfócitos T – tipo CD4+ e CD8+), estruturais, epiteliais e nervosas. A inibição das PDE resulta no acúmulo de AMP e GMP cíclicos, facilitando a transdução dos sinais efetivada por essas vias (GOODMAN & GILMAN, 2006). A inibição das PDE III e PDE IV pela teofilina leva ao efeito broncodilatador e vasodilatador, já a inibição da PDE IV apenas demonstra uma ação imunomoduladora e antiinflamatória. A inibição da PDE V eleva os níveis de GMP cíclico na musculatura lisa brônquica e células inflamatórias (broncodilatação, imunomodulação e antiinflamatório) (GOODMAN & GILMAN, 2006; BUENO, 2003; ZAWILSKA *et al.*, 2000).

Outro mecanismo de ação se daria através do antagonismo competitivo não-seletivo dos receptores de adenosina. Esta pode atuar como autacóide e transmissor em inúmeras ações biológicas. Essa substância pode causar broncodilatação e potencializar a liberação dos mediadores imunologicamente induzidos pelos mastócitos humanos. A Teofilina, atuando como um potente inibidor dos receptores de adenosina (A_1 , A_{2a} , A_{2b} e A_3), reduz a responsividade brônquica à histamina, aeroalérgenos, água destilada, metacolina, dióxido de enxofre e adenosina (KATZUNG, 2010);

Um aumento nos níveis extracelulares de adenosina deprime a transmissão sináptica excitatória, ocorrendo principalmente pelo fato disso reduzir a liberação de outros neurotransmissores das terminações nervosas em conexão e pela depressão da excitabilidade dos neurônios pós-sinápticos por inibição da adenilato ciclase (NARIMATSU & AOKI, 2000; HUNG *et al.*, 2002; HUANG *et al.*, 2002). Como exemplo desse efeito depressor tem-se que a atividade da NE é diminuída pela adenosina e pelas prostaglandinas, as quais por sua vez sofrem inibição pela teofilina (MANCINI & HALPERN, 2002).

Supõe-se ainda que a teofilina possa interferir com a mobilização do cálcio no músculo liso brônquico de forma direta e indireta, inibindo a sua liberação em nível intracelular por atuação na conversão do fosfatidilinositol, agindo no processo de hiperpolarização da membrana da célula muscular lisa ou agindo no desacoplamento do cálcio intracelular no que se refere aos elementos contráteis (VIARO & ÉVORA, 2000; BUENO, 2003).

1.3.4 Efeitos Colaterais

As propriedades que as metilxantinas apresentam em comum são: estimulação do SNC (inclusive do centro respiratório), crono e inotropismo positivos, vasodilatação periférica e coronariana, vasoconstrição ao nível do SNC, aumento da secreção gástrica, ação diurética, aumento da força de contração da musculatura esquelética e relaxamento da musculatura lisa em geral (brônquica, vascular) (EJZENBERG *et al.*, 1980).

Dentro desse quadro, os efeitos colaterais mais comuns são a irritabilidade, cefaléia, náuseas, vômitos (por inibição da PDE IV no centro do vômito), dor abdominal, diarreia e tremores. A estimulação do SNC, arritmias cardíacas, hipersecreção gástrica (por inibição da PDE IV nas glândulas parietais), refluxo gastroesofágico e aumento da diurese ocorrem pelo antagonismo ao receptor de adenosina (BARNES *et al.*, 1998). Convulsões ocorrem quando a teofilina encontra-se em altas concentrações plasmáticas e quando a aplicação por via endovenosa é muito rápida, podendo levar até a morte súbita (HUNG *et al.*, 2002; ROCHA & MEDEIROS FILHO, 2001; NARIMATSU & AOKI, 1999; EJZENBERG *et al.*, 1980).

1.4 Estresse oxidativo

A produção de oxidantes é parte do metabolismo normal de vários tipos celulares e possui um papel importante para manter a homeostase celular. Os tecidos são constantemente submetidos à presença de espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outros gerados durante numerosas reações metabólicas (CASTILLO *et al.*, 1992; CABRE *et al.*, 2000). Para se proteger contra os efeitos nocivos dos oxidantes o organismo possui um sistema antioxidante. Porém, quando ocorre um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidante e antioxidante em favor do primeiro, instala-se o chamado estresse oxidativo (PRIOR & CAO, 1999; COMHAIR & ERZURUM, 2002).

O estresse oxidativo produz transtornos no metabolismo celular, incluindo aumento na concentração intracelular de cálcio, alteração no transporte iônico, alteração na permeabilidade da membrana e destruição celular por peroxidação lipídica (RAHMAN *et al.*, 1989). As ROS têm sido implicadas como mediadores de várias patologias tais como, esclerose múltipla (HALLIWEL & GUTTERIDGE, 1999), câncer hepático (MAJOR & COLLIER, 1998), aterosclerose (SALVEMINI & CUZZOCREA, 2002), além das doenças respiratórias incluindo a asma (HENRICKS & NIJKAMP, 2001; CARAMORI & PAPI, 2004), e alguns marcadores diretos ou indiretos do estresse oxidativo, incluem malonildialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

O sistema de defesa antioxidante inclui antioxidantes não enzimáticos (ex.: glutathiona, ácido úrico, bilirubina, β -caroteno (vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e α -tocoferol (vitamina E)) e enzimáticos tais como, superóxido-dismutase (SOD), catalase e glutathiona-peroxidase (GSH-Px) (RAHMAN *et al.*, 1989; CASTILLO *et al.*, 1992; MELIN *et al.*, 2000).

O etanol tem sido descrito como causador de estresse oxidativo (EO) no cérebro de ratos e camundongos. O cérebro consome altas taxas de oxigênio por unidade de massa de tecido, e contém altos níveis de lipídios peroxidáveis, aminoácidos citotóxicos e baixos níveis de antioxidantes. Muitos neurotransmissores são moléculas auto-oxidantes. Por exemplo, a dopamina e a noradrenalina reagem com o oxigênio molecular para formar quininas e semiquinonas, que pode esgotar a glutathiona; ROS (espécies reativas de oxigênio) também são gerados durante esse

processo (GRAHAM, 1978; DUGAN & CHOI, 1999). Da mesma forma, no cérebro, a oxidação da dopamina pela monoamina oxidase libera peróxido de hidrogênio como um produto metabólico que provoca a lesão tecidual, incluindo a peroxidação lipídica, danos ao DNA, e inativação de enzimas (HALIWELL & GUTTERIDGE, 1999).

O estresse oxidativo induzido pelo etanol está ligado ao seu metabolismo, por três vias principais que produzem radicais livres, afetando o sistema antioxidante (DAS *et al.*, 2003). Espécies Reativas do Oxigênio (ROS) e aldeído acético são gerados durante o metabolismo do etanol causando dano oxidativo no cérebro, fígado e rim (ZIMATKIN & DEITRICH, 1997; CALABRESE *et al.*, 1998). Por outro lado, a aminofilina tem sido descrita com propriedades antioxidantes, e alguns efeitos terapêuticos desta droga podem estar relacionados a essas propriedades (LAPENNA *et al.*, 1995). Antagonistas do receptor A_{2A} , por exemplo, mostraram efeitos protetores em diferentes patologias geradas por ROS, sugerindo os antagonistas do receptor A_{2A} como potenciais agentes neuroprotetores (STONE *et al.*, 2001).

Assim, a aminofilina é uma droga com ação promissora para condições fisiopatológicas que estejam relacionadas a alterações depressoras no sistema nervoso central.

2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

O uso abusivo de álcool constitui um grave problema de Saúde Pública, envolvendo o contexto familiar e social. A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2008) avalia que o uso problemático de álcool impõe às sociedades uma carga considerável de agravos indesejáveis e altamente dispendiosos. Estima-se que os prejuízos deste uso abusivo incluem doenças físicas (cirrose, pancreatites, diabetes, traumas causados por acidentes automobilísticos, entre outros), alteração de sua vida social, perdas financeiras e de qualidade de vida.

Além disso, todo condutor de veículos em estado de embriaguez, mesmo leve, compromete gravemente a sua segurança e a dos usuários da via. Grande parte dos acidentes de trânsito ocorridos no Brasil é consequência direta da embriaguez ao volante, isso porque muitas pessoas ainda acreditam no falso poder estimulante do álcool.

Embora o alcoolismo seja um importante problema de saúde pública e bastante antigo, pouco é conhecido sobre seu mecanismo fisiopatológico no sistema nervoso central. Isso porque o etanol atua em vários sistemas neuronais, sendo necessário identificar sua ação nos mesmos. Um desses sistemas é o de adenosina. Drogas antagonistas do sistema adenosínico, como aminofilina, têm a característica de bloquear a ação de drogas depressoras do SNC. Tendo em vista a possível ação antagonista da aminofilina sobre o efeito depressor do etanol e como uma ferramenta para desvendar o mecanismo de ação do etanol, viu-se a necessidade de analisar a interação entre álcool e sistema adenosínico através de estudos comportamentais, neuroquímicos e de neuroproteção.

3 OBJETIVOS

3.1 Gerais

Estudar os efeitos agudos do etanol associado com aminofilina em testes comportamentais, neuroquímicos e de neuroproteção em camundongos.

3.2 Específicos

- Verificar as alterações comportamentais, provocadas pela administração aguda de etanol sozinho ou associado com aminofilina, através de testes comportamentais de atividade locomotora e depressão;
- Determinar a densidade de monoaminas e metabólitos no córtex pré-frontal (CPF) após administração de etanol sozinho ou associado com aminofilina;
- Verificar o potencial neuroprotetor da associação de etanol e aminofilina no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado.

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss*, adultos-jovens, 2-4 meses, machos, com peso variando entre 25-30 g, provenientes do Biotério da Universidade Estadual do Ceará - UECE.

Durante todos os experimentos, os animais foram mantidos em gaiolas com no máximo 10 animais, em condições ambientais semelhantes, com ciclos de alternância claro/escuro de 12 horas, recebendo ração padrão tipo purina e água *ad libitum*. A manipulação dos animais, antes, durante e depois dos experimentos, foi conduzida de acordo com as regras de manipulação de animais de laboratório, preconizadas pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL), e foram seguidas as normas do Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Ceará (nº 08476336-1).

4.2 Preparo das Drogas

- Etanol: O álcool etílico absoluto P.A. (Merck, Alemanha) foi utilizado para o preparo de solução a 20% (em água destilada). O etanol foi administrado nos animais na dose 2 g/kg, via oral – v.o.;
- Aminofilina (Teuto, Brasil): A apresentação do medicamento é de 10 ml, onde a solução se constitui de 24 mg/ml e foi administrada nas doses de 5 ou 10 mg/kg, intraperitoneal – i.p.

4.3 Tratamento dos Grupos Experimentais

Os animais foram tratados com água destilada (controle - C), etanol (E) ou aminofilina (A). Para os grupos de associação, os animais foram pré-tratados com etanol (2 g/kg) trinta minutos antes da administração de aminofilina nas doses de 5 ou 10 mg/kg (E/A). Trinta minutos após a administração de aminofilina ou 60 minutos

após administração de etanol, os animais foram submetidos aos testes comportamentais (Figura 7).

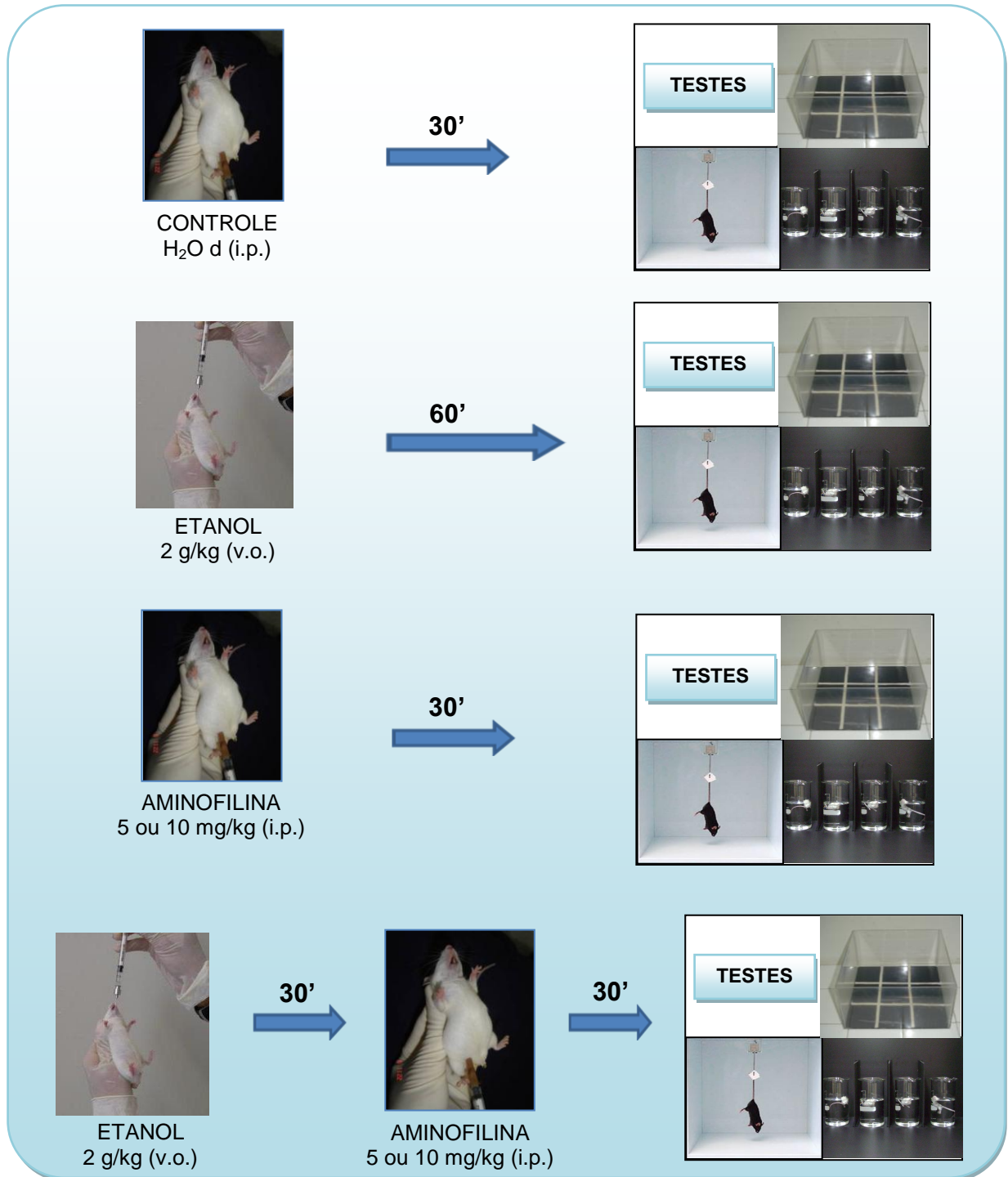


Figura 7: Tratamento dos grupos experimentais

4.4 Estudo Comportamental

4.4.1 Teste do campo aberto

O campo aberto (Figura 8) para camundongos é feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) dividido em nove quadrantes iguais. O campo aberto foi utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal (ARCHER, 1973). Os principais parâmetros para observação foram: número de cruzamentos com as quatro patas (movimentação espontânea) e número de levantamentos do animal na vertical (“rearing”), como índice de emocionalidade, registrados durante 4 minutos, após 1 minuto de habituação. A tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do conflito com o medo provocado por esse novo ambiente.



Figura 8: Aparato para teste do campo aberto

4.4.2 Teste de suspensão da cauda

O teste de suspensão da cauda (Figura 9) foi descrito pela primeira vez por Steru *et al.* (1985), sendo utilizado para estudar efeitos comportamentais de componentes antidepressivos. Nessa parte do protocolo, os animais, aproximadamente 30 minutos após a última aplicação, foram suspensos pela cauda e fixados com uma fita adesiva a 1 cm de sua base em um anteparo de acrílico a

uma determinada altura em que o animal ficasse com sua cabeça a uma distância de 5 cm do solo livre de qualquer obstáculo próximo onde permaneceram até o final do teste. A duração do teste foi de 6 minutos, sendo registrado o tempo de imobilização do animal.



Figura 9: Aparato para teste de suspensão da cauda

4.4.3 Teste do nado forçado

O teste do nado forçado (Figura 10) determina o comportamento de luta pela vida do animal sob uma situação de grande estresse induzido pelo nado em um tanque cilíndrico de acrílico pequeno. Esse teste é comumente usado na avaliação da efetividade de agentes antidepressivos, pelo aumento da atividade natatória do animal.

Proposto por Porsolt *et al.* (1978), o teste inclui duas exposições a um tanque cilíndrico de acrílico, com 19 cm de diâmetro (base) e 30 cm de altura preenchido com água até uma altura de 15 cm (a temperatura ambiente), espaçadas de 24 horas. Durante a primeira exposição, os animais, não tratados, foram colocados no tanque, um por vez, e deixados por 15 minutos. Durante a segunda exposição (teste propriamente dito) os animais foram tratados e, 30 minutos após a aplicação, colocados no tanque onde o tempo de imobilidade foi contado durante cinco minutos.



Figura 10: Aparato para teste de nado forçado

4.5 Estudo Neuroquímico

- Dosagem de monoaminas e metabólitos

Os animais foram decapitados após os testes comportamentais e, imediatamente, tiveram seus cérebros dissecados sobre gelo. O CPF foi utilizado para preparar homogenatos a 10 %. Os tecidos cerebrais foram sonicados em ácido perclórico (HClO_4) por 30 segundos e centrifugados por 15 minutos em centrífuga refrigerada a $21913 \times g$. Uma alíquota de $20 \mu\text{l}$ do sobrenadante foi injetada no equipamento de HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) (Figura 11) com detecção eletroquímica, para a análise química. Para a análise das monoaminas foi utilizada uma coluna CLC-ODS(M) com comprimento de 25 cm, calibre 4,6 mm e diâmetro da partícula de $3 \mu\text{m}$, da Shimadzu-Japão. A fase móvel utilizada foi composta por tampão ácido cítrico 0,163 M, pH 3,0, contendo ácido octanosulfônico sódico, 0,69 M (SOS), como reagente formador do par iônico, acetonitrila 4 % v/v e tetrahydrofurano 1,7 % v/v. NE, DA e DOPAC foram eletronicamente detectados usando um detector amperométrico (Modelo L-ECD-6A da Shimadzu, Japão) pela oxidação em um eletrodo de carbono vítreo fixado em 0,85 V relativo a um eletrodo de referência de Ag-AgCl. Os padrões foram preparados em uma concentração final de 4 ng de NE, DA e DOPAC (Sigma, MO, EUA). A partir da altura ou área dos picos

desses padrões, as amostras foram calculadas no programa *Microsoft Excel* em um computador PC e os resultados expressos em ng/g de tecido.



Figura 11: Aparelho de HPLC com detecção de fluorescência e eletroquímica.

4.6 Estudo do potencial neuroprotetor

Para a determinação das concentrações de malonildialdeído e atividade da catalase (parâmetros de estresse oxidativo), os animais foram sacrificados 30 min após administração da aminofilina ou 60 minutos após administração de etanol, e as áreas cerebrais córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado foram dissecadas e homogeneizadas com tampão fosfato a 10%, 0,05 M e pH 7.4.

4.6.1 Medida dos níveis de peroxidação lipídica – Dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A peroxidação lipídica foi analisada medindo-se a concentração de malonildialdeído, uma das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), em homogenatos (HUONG *et al.*, 1998). As amostras foram adicionadas a um sistema catalisador de formação de radicais livres (FeSO_4 0,01 mM e ácido ascórbico 0,1 mM), e então mantidas a 37°C por 30 min. A reação foi interrompida pela adição

de ácido tricloroacético 10%, posteriormente as amostras foram centrifugadas (3000 rpm/15 min), sendo o sobrenadante retirado e acrescido de ácido tiobarbitúrico 0,8%, sendo colocado depois em banho-maria por 15 minutos. Após resfriamento com auxílio de um banho de gelo, foi medida a absorvância em 535nm. A peroxidação lipídica foi expressa em μmol de malonildialdeído (MDA)/mg proteína.

4.6.2 Dosagem de catalase

A atividade da enzima catalase foi medida através do método que emprega a geração H_2O e O_2 pelo peróxido de hidrogênio (MAEHLY & CHANCE, 1954). A atividade da enzima foi medida pelo grau desta reação. Uma alíquota das amostras (20 μl) foi adicionada a 980 μl de meio reativo (H_2O_2 15%, Tampão Tris-HCl 1 M; EDTA 5 mM pH 8,0; H_2O Milli-Q). As absorvâncias inicial e final foram gravadas a 230 nm após o 1º e 6º minuto, respectivamente. Uma curva padrão foi estabelecida utilizando catalase pura (Sigma, MO, USA) sob condições idênticas. Todas as amostras foram diluídas com 0,1 mmol/l de tampão fosfato (pH 7.0) para provocar 50% de inibição da taxa de diluente. A proteína foi determinada usando albumina sérica bovina como padrão (LOWRY *et al.*, 1951). Os resultados foram expressos em mmol/min/mg de proteína.

4.7 Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando-se ANOVA para os testes paramétricos, e posteriormente *Tukey* como teste *post hoc*. O programa de computador usado foi *GraphPad Prism*, versão 5.0. Em todos os casos foi utilizado o critério de significância de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Estudo Comportamental

5.1.1 Teste do campo aberto

Como demonstrado na Figura 12, etanol (E) ($19,6 \pm 3,2$) apresentou efeito depressor sobre a atividade exploratória dos animais, uma vez que este reduziu o número de cruzamentos no teste de campo aberto. Por outro lado, a aminofilina na menor dose (5 mg/kg – A5) ($54,6 \pm 4,0$) aumentou este parâmetro, quando comparada ao grupo controle (C) ($36,7 \pm 2,4$). Além disso, os grupos de associação (E/A) (E/A5: $47,4 \pm 4,5$; E/A10: $50,3 \pm 5,6$), aumentaram o número de cruzamentos, quando comparados ao etanol administrado isoladamente [$F(5,88) = 12,63$; $p < 0.0001$], mostrando uma reversão do efeito do etanol.

Considerando o comportamento de *rearing* (levantamentos), o grupo tratado com etanol ($7,8 \pm 2,2$) apresentou este parâmetro reduzido quando comparado ao grupo controle ($23,5 \pm 2,5$). Tal efeito foi bloqueado pela associação com aminofilina em ambas as doses (E/A5: $21,8 \pm 2,4$; E/A10: $28,0 \pm 2,9$) [$F(5,89) = 9,46$; $p < 0.0001$]. Porém, quando administrada sozinha, a aminofilina tanto na menor, quanto na maior dose não alterou o número de *rearing* quando comparada ao grupo controle (A5: $30,8 \pm 2,4$; A10: $22,6 \pm 3,7$).

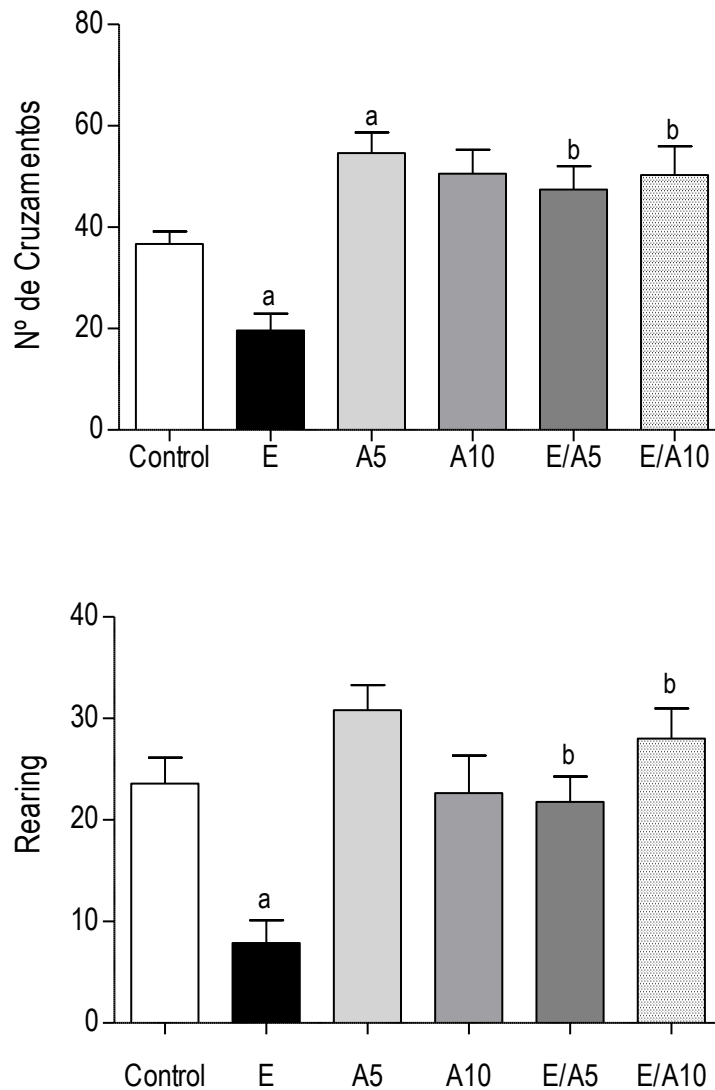


Figura 12 - Efeito do tratamento agudo de etanol e aminofilina na atividade locomotora de camundongos. Etanol (E) (2 g/kg), aminofilina (A) (5 ou 10 mg/kg) ou veículo (control) foram administrados. No protocolo de associação (E/A), os animais foram pré-tratados com etanol (2 g/kg) e 30 min após com aminofilina (5 ou 10 mg/kg). Trinta minutos após administração da aminofilina ou 60 min após administração de etanol, os animais foram testados no aparato do campo aberto. Cada barra representa média \pm EPM. ^{a,b} $p < 0.05$ comparados com grupo controle e etanol, respectivamente (ANOVA seguida por Tukey como teste *post hoc*).

5.1.2 Teste de suspensão da cauda

No grupo tratado com etanol ($112,8 \pm 11,6$), foi observado um aumento do tempo de imobilidade do animal, confirmando o efeito depressor sobre o sistema nervoso central produzido pelo etanol (2 g/kg), e, a aminofilina, como já esperado por seu efeito excitatório sobre o sistema nervoso central, reduziu o tempo de imobilidade, porém apenas na menor dose ($40,7 \pm 7,4$) quando comparada ao grupo controle ($78,5 \pm 7,6$). Além disso, nos grupos que receberam a associação (E/A5: $39,4 \pm 7,4$; E/A10: $23,5 \pm 4,4$) foi observado o bloqueio do efeito depressor do etanol, havendo uma redução do tempo de imobilidade quando comparados ao grupo do etanol ou controle [$F(5,79) = 13,51$; $p < 0.0001$] (Figura 13).

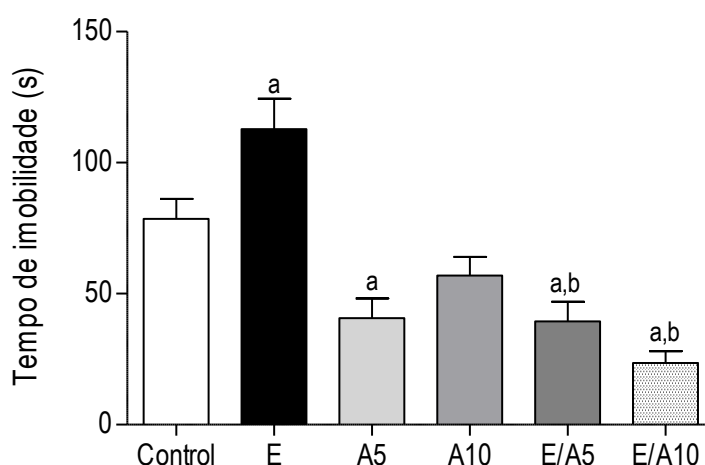


Figura 13 - Avaliação da atividade antidepressiva da associação de etanol e aminofilina no teste de suspensão da cauda. Os animais foram tratados com etanol (E) (2 g/kg), aminofilina (A) (5 ou 10 mg/kg) ou veículo (control). No protocolo de associação (E/A), os animais foram pré-tratados com etanol (2 g/kg) e 30 min após com aminofilina (5 ou 10 mg/kg). Trinta minutos após administração da aminofilina ou 60 min após administração de etanol, os animais foram testados no aparato de suspensão da cauda, com o tempo de imobilidade como parâmetro observado durante 6 min. Cada barra representa média \pm EPM. ^{a,b} $p < 0.05$ comparados com grupo controle e etanol, respectivamente (ANOVA seguida por Tukey como teste *post hoc*).

5.1.3 Teste do nado forçado

A Figura 14 mostra que o grupo tratado com etanol ($190,8 \pm 14,3$), aumentou o tempo de imobilidade, expressando um efeito depressor como já observado no teste de suspensão da cauda, enquanto a aminofilina, em ambas as doses (A5: $62,3 \pm 9,4$; A10: $53,7 \pm 8,9$), reduziu este parâmetro quando comparada ao grupo controle ($104,8 \pm 6,9$). Nos grupos de associação (E/A5: $135,6 \pm 10,2$; E/A10: $130,4 \pm 12,4$) foi observado alterações tanto no efeito depressor do etanol quanto no efeito estimulante da aminofilina, uma vez que E/A5 e E/A10 reduziram o tempo de imobilidade quando comparados ao grupo E, e aumentaram este quando comparados aos grupos A5 e A10 [$F(5,69) = 23,84$; $p < 0.0001$].

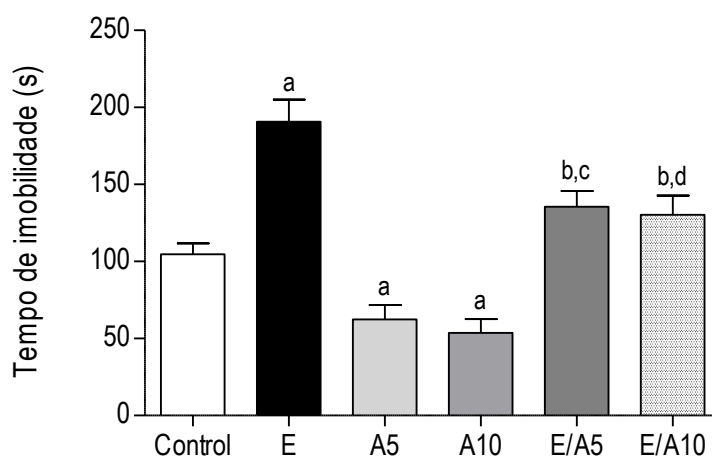


Figura 14 - Avaliação da atividade antidepressiva da associação de etanol e aminofilina no teste de nado forçado. Os animais foram pré-condicionados 24hs antes do teste, sendo expostos por 15 min em um tanque com água, sem drogas. No dia do teste, os animais foram tratados com etanol (E) (2 g/kg), aminofilina (A) (5 ou 10 mg/kg) ou veículo (control). No protocolo de associação (E/A), os animais foram pré-tratados com etanol (2 g/kg) e 30 min após com aminofilina (5 ou 10 mg/kg). Trinta minutos após administração da aminofilina ou 60 min após administração de etanol, os animais foram testados no aparato do nado forçado, com o tempo de imobilidade como parâmetro observado durante 5 min. Cada barra representa média \pm EPM. ^{a,b,c,d} $p < 0.05$ comparados com grupo controle, etanol, aminofilina 5mg/kg e aminofilina 10mg/kg, respectivamente (ANOVA seguida por Tukey como teste *post hoc*).

5.2 Estudo Neuroquímico

- Dosagem de monoaminas e seus metabólitos

As concentrações de monoaminas e seus metabólitos (NE, DA e DOPAC) dosados no córtex pré-frontal estão apresentados na Figura 15 (A, B, C), respectivamente. Foi observado que a concentração de norepinefrina apresentou-se diminuída em todos os grupos analisados quando comparados ao grupo controle [$F(5,64) = 14,85$; $p < 0.0001$]. Já a concentração de NE observada no grupo E ($1657 \pm 131,1$) foi aumentada pela associação com aminofilina na menor dose (E/A5: $2820 \pm 266,9$). Curiosamente, E/A10 reduziu significativamente a concentração de NE, mostrando diferença também quando comparado ao grupo A10 ($2273 \pm 333,3$).

O grupo tratado com etanol ($1180 \pm 103,8$) reduziu em 43% a concentração de dopamina quando comparado ao grupo controle ($2049 \pm 184,43$), enquanto aminofilina, em ambas as doses, não alterou as concentrações desta monoamina (A5: $1565 \pm 320,1$; A10: $1389 \pm 221,2$). Considerando os grupos da associação, E/A na menor dose ($2499 \pm 253,6$) foi efetivo em bloquear o efeito do etanol, aumentando a concentração de DA quando comparado com o grupo tratado com etanol sozinho [$F(5,56) = 5,51$; $p < 0.0004$].

Quanto aos metabólitos analisados, etanol ($677,6 \pm 59,1$) aumentou a concentração de DOPAC quando comparado ao controle ($362,8 \pm 67,2$), e os grupos de associação (E/A5: $322,6 \pm 39,9$; E/A10: $241,0 \pm 63,2$), bloquearam o efeito do etanol, reduzindo a concentração de DOPAC quando comparado ao E, trazendo assim, para valores próximos aos observados no grupo controle [$F(5,54) = 5,42$; $p < 0.0005$].

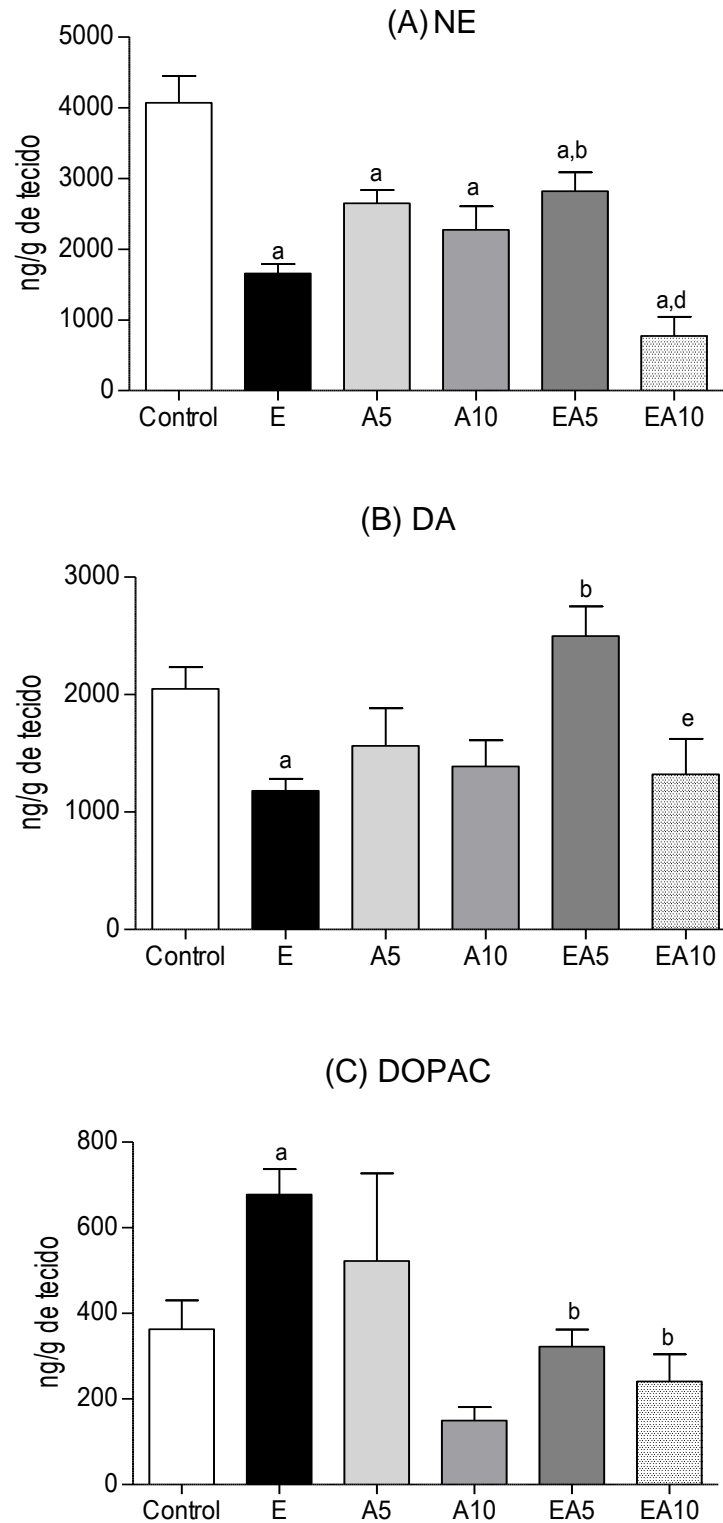


Figura 15 - Efeitos do etanol sozinho ou associado com aminofilina nos níveis de monoaminas no córtex pré-frontal de camundongos. (A) NE-Norepinefrina; (B) DA-Dopamina; (C) DOPAC. Os dados são apresentados como a média \pm E.P.M. ^{a,b,d,e} $p < 0.05$ comparados com grupo controle, etanol, aminofilina 10mg/kg ou E/A 5 mg/kg, respectivamente (ANOVA seguida por Tukey como teste *post hoc*).

5.3 Estudo do potencial neuroprotetor

5.3.1 Níveis de peroxidação lipídica (TBARS)

A figura 16 (A, B, C) mostra os efeitos da administração aguda de etanol e aminofilina nos níveis de TBARS no CPF, HC e CE, respectivamente. O etanol aumentou em torno de 119% a concentração de MDA no HC quando comparado com o grupo controle, e efeito oposto foi observado com a aminofilina em ambas as doses, as quais reduziram o MDA em todas as áreas cerebrais analisadas, sendo esta redução mais evidenciada no hipocampo (em torno de 80%). A associação EA5 reduziu em torno de 88%, 98% e 97% a concentração de MDA induzida pelo etanol no CPF, HC e CE, respectivamente, enquanto EA10 apenas reduziu este parâmetro no CPF (29%) e HC (65%). [Figura A - $F(5,30) = 59.63$, $p < 0.0001$; figura B - $F(5,32) = 51.12$, $p < 0.0001$; figura C - $F(5,31) = 48.45$, $p < 0.0001$].

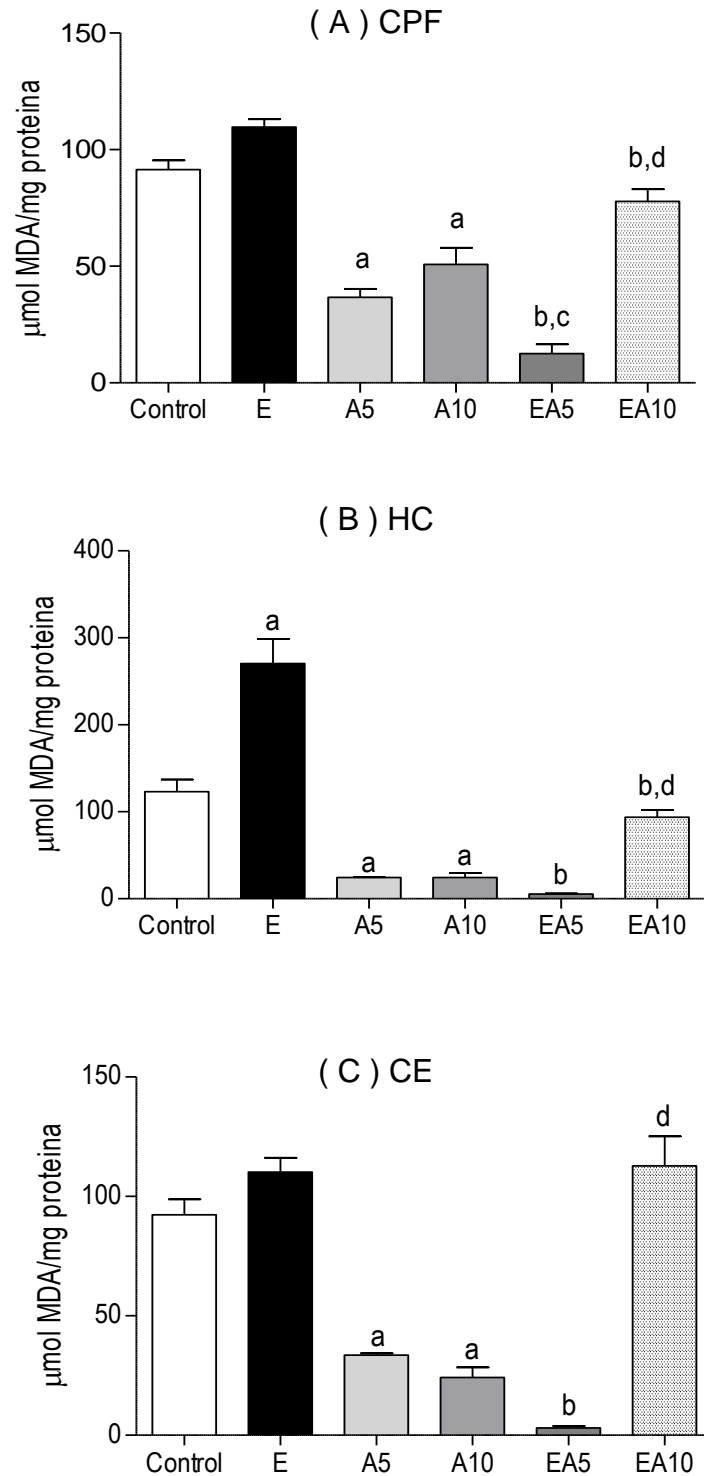


Figura 16 - Peroxidação lipídica no córtex pré-frontal-CPF (A), hipocampo-HC (B) e corpo estriado-CE (C) de camundongos tratados com etanol sozinho ou associado com aminofilina. Etanol (2 g/kg), aminofilina (5 ou 10 mg/kg) ou veículo foram administrados. Para o protocolo de associação, os animais foram pré-tratados com etanol (2 g/kg) e após 30 min com aminofilina (5 ou 10 mg/kg). Cada barra representa média \pm EPM. Abreviações: MDA, malonildialdeído. ^{a,b,c,d} $p < 0,05$ comparados com grupo controle, etanol, aminofilina 5 mg/kg e aminofilina 10 mg/kg, respectivamente (ANOVA seguida por Tukey como teste *post hoc*).

5.3.2 Avaliação da atividade da catalase

O etanol aumentou a atividade da catalase nas três áreas analisadas (CPF: 330%; HC: 2155%; CE: 276%) confirmando seu papel como agente oxidante neuronal (Figura 17 – A, B, C). Efeito semelhante foi observado com administração de aminofilina apenas na maior dose, quando comparada com o grupo controle no CPF (154%) e HC (207%). Por outro lado, os grupos de associação nas duas doses reverteram a atividade da catalase induzida pelo etanol nas três áreas analisadas, com efeito mais pronunciado no HC (EA5: 81%; EA10: 85%) [Fig A - $F(5,34) = 11.11$, $p < 0.0001$; fig. B - $F(5,29) = 37.26$, $p < 0.0001$; fig C - $F(5,33) = 23.93$, $p < 0.0001$].

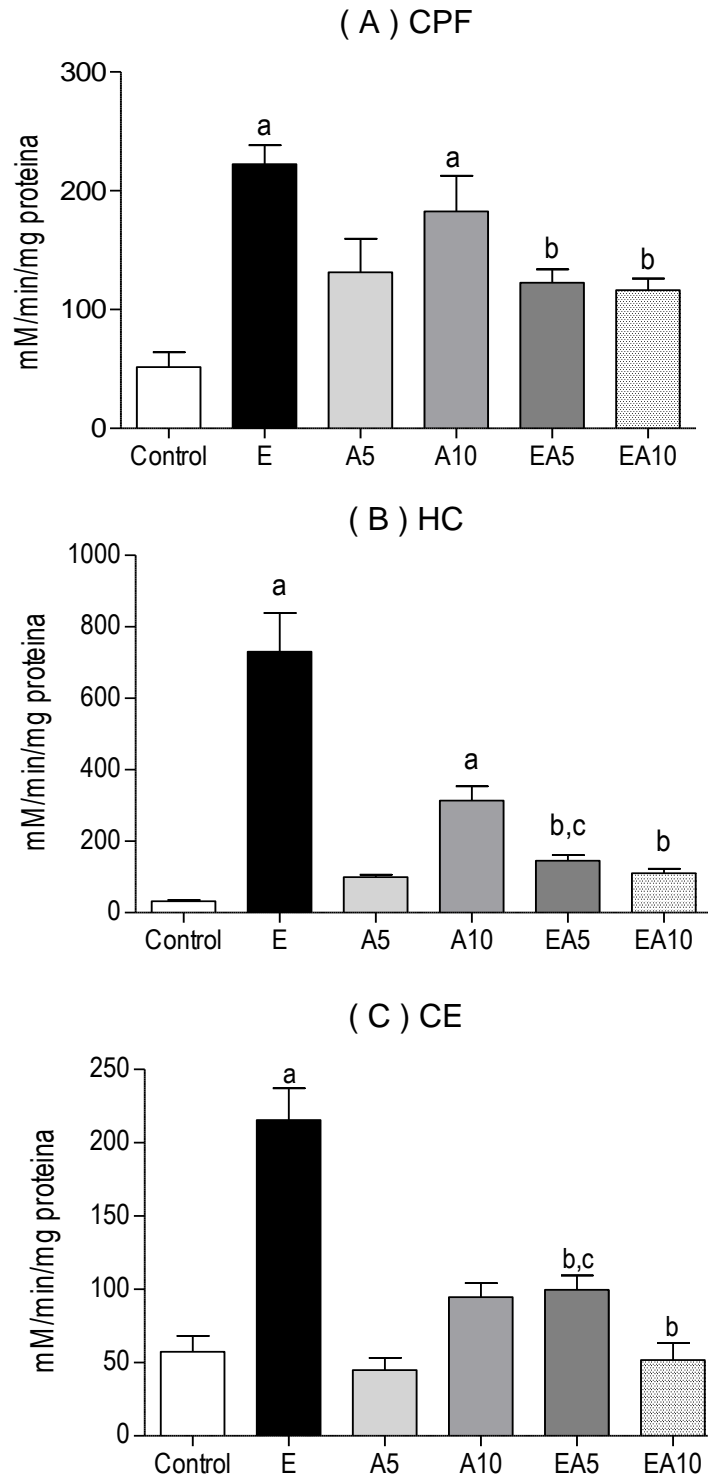


Figura 17 - Atividade da catalase no córtex pré-frontal-CPF (A), hipocampo-HC (B) e corpo estriado-CE (C) de camundongos tratados com etanol e aminofilina. Etanol (2 g/kg), aminofilina (5 ou 10 mg/kg) ou veículo foram administrados. Para o protocolo de associação, os animais foram pré-tratados com etanol (2 g/kg) e após 30 min com aminofilina (5 ou 10 mg/kg). Cada barra representa média \pm EPM. ^{a,b,c} $p < 0,05$ comparados com grupo controle, etanol e aminofilina 5 mg/kg, respectivamente (ANOVA seguida por Tukey como teste *post hoc*).

6 DISCUSSÃO

Este estudo investigou os efeitos da associação aguda de etanol e aminofilina em modelos comportamentais de atividade exploratória e depressão, assim como dosagem das concentrações de monoaminas e seus metabólitos no córtex pré-frontal de camundongos e o possível efeito neuroprotetor da aminofilina no estresse oxidativo induzido pelo etanol.

Observou-se que o etanol (2 g/kg) apresentou efeito depressor, indicado por redução no número de cruzamentos e “*rearing*” no teste do campo aberto, e pelo aumento do tempo de imobilidade nos testes de depressão.

De acordo com a literatura (BOERNGEN-LACERDA & SOUZA-FORMIGONI, 2000; MCINTOSH & CHICK, 2004; SOARES *et al.*, 2009), o etanol exibe um efeito bifásico, apresentando um transiente excitatório em baixas doses e uma atividade depressora em altas doses, ou em seu uso crônico. Os inúmeros transmissores envolvidos nas ações do etanol podem explicar sua grande variedade de efeitos, e as vias de neurotransmissão modificadas por ele podem incluir aquelas mediadas por GABA, glutamato, norepinefrina, dopamina, serotonina e acetilcolina (HUNT & MAJCHROWICZ, 1983; SHARKO & HODGE, 2008; THEILE *et al.*, 2008; VASCONCELOS *et al.*, 2004; VASCONCELOS *et al.*, 2008).

Sabe-se também que a ingestão aguda de etanol inibe a recaptação de adenosina via transportador de nucleosídeo, aumentando a concentração extracelular de adenosina (ALLEN-GIPSON *et al.*, 2009), que apresenta características depressoras, sugerindo um reforço no efeito depressor do etanol. Somado a isso, as ações do etanol podem também sofrer influência do sistema de adenosina, que já foi descrito como um modulador das propriedades farmacológicas do etanol, como efeitos sedativos/hipnóticos (EL YACOUBI *et al.*, 2003), desenvolvimento de rápida tolerância aos prejuízos motores induzidos por etanol (BATISTA *et al.*, 2005), dentre outros. Esta ampla gama de neurotransmissores envolvida nos efeitos do etanol pode levar a uma variedade de mudanças comportamentais e fisiológicas como sedação, amnésia, falta de coordenação motora, depressão, convulsões dentre outros (HUNT & MAJCHROWICZ, 1983; MCINTOSH & CHICK, 2004; PREDIGER *et al.*, 2004; SOARES *et al.*, 2009).

Como já descrito anteriormente, a aminofilina consiste de aproximadamente 80% de teofilina, que apresenta efeito excitatório sobre o sistema nervoso central, e age através da inibição de fosfodiesterase, bem como antagonizando de forma não-seletiva receptores adenosínicos A_1 e A_{2A} (NAKADA *et al.*, 1983; NARIMATSU & AOKI, 2000). Assim, este efeito excitatório sobre o sistema nervoso central foi confirmado, uma vez que a aminofilina (nas doses de 5 ou 10 mg/kg) aumentou a atividade locomotora e comportamento de *rearing* no teste de campo aberto, e também mostrou-se hábil em bloquear os efeitos depressores do etanol no mesmo teste.

Receptores de adenosina estão envolvidos na regulação do comportamento motor em roedores, estando co-localizados com receptores dopaminérgicos em neurônios gabaérgicos no corpo estriado, agindo através de uma interação antagônica (FUXE *et al.*, 2007). De fato, pôde-se observar que a aminofilina, um antagonista de receptores de adenosina, promoveu um efeito motor estimulante, aumentando o número de cruzamentos e bloqueando o efeito do etanol quando administrada junto ao mesmo. Esta interação antagonista entre receptores de adenosina A_{2A} /dopamina D_2 e adenosina A_1 /dopamina D_1 pode ser, em parte, responsável pelos efeitos motores estimulantes de antagonistas de receptores adenosínicos como cafeína, e pelos efeitos motores depressores de agonistas de receptores adenosínicos (FUXE *et al.*, 2007).

Nos testes de suspensão de cauda e nado forçado a aminofilina mostrou um efeito antidepressivo, reduzindo o tempo de imobilidade do animal, e curiosamente, a menor dose testada foi mais efetiva em reverter os efeitos depressores do etanol, sugerindo a importância da menor dosagem necessária para obtenção dos efeitos observados. Entretanto, foi observada uma interferência do etanol sobre este efeito antidepressivo da aminofilina, uma vez que os parâmetros avaliados (tempo de imobilidade) no teste de nado forçado, após a administração da associação, trouxeram os valores para próximo aos observados com a aplicação do etanol sozinho.

Ambos os testes de suspensão da cauda e nado forçado são utilizados para avaliar a atividade antidepressiva de drogas, porém uma variabilidade nos resultados pode ocorrer devido ao fato da postura de imobilidade no contexto do teste de nado forçado representar uma diminuição da persistência no comportamento direcionado de escapar, enquanto a imobilidade no teste de

suspensão da cauda se dá pela inabilidade ou relutância em manter com esforço a postura em vez de uma hipoatividade generalizada. Esta imobilidade pode ser análoga a observações clínicas de que pacientes deprimidos muitas vezes falham em se esforçar para sustentar uma postura, o que se reflete em posturas e prejuízos motores pronunciados (WEINGARTNER & SILBERMAN, 1982). Além disso, embora a ação depressora do etanol observada nos testes de suspensão de cauda e nado forçado possam ser em parte devido ao déficit motor causado pela alta dose de etanol utilizada neste estudo, esse efeito foi revertido pela associação com aminofilina nas doses de 5 ou 10 mg/kg, mostrando que este antagonista de receptores adenosínicos bloqueou consistentemente o efeito depressor induzido pelo etanol.

Um crescente número de evidências de vários laboratórios tem apontado para um papel direto da adenosina em mediar algumas respostas celulares e comportamentais ao etanol (HOUCHI *et al.*, 2008; THORSELL *et al.*, 2007). A cafeína e antagonistas seletivos de receptores de adenosina reduzem a duração da perda do reflexo de endireitamento induzido pelo etanol (EL YACOUBI *et al.*, 2003), bloqueiam a falta de coordenação motora induzida pelo etanol (BARWICK & DAR, 1998; DAR, 2001; SOARES *et al.*, 2009) e revertem o prejuízo na memória retrógrada causado por um alta dose de etanol (3 g/kg) (SPINETTA *et al.*, 2008). Ainda, receptores adenosínicos A_1 modulam as ações do etanol sobre a ansiedade (PREDIGER *et al.*, 2006), e tem sido sugerido que as propriedades de reforço do etanol são, em parte, mediadas via receptores A_2 no *núcleo accumbens*, propondo que a administração de antagonistas de receptores A_{2a} podem reduzir o consumo e sistema de recompensa do etanol (THORSELL *et al.*, 2007).

Estudos anteriores propuseram uma interação importante entre dopamina e norepinefrina no córtex pré-frontal (TASSIN *et al.*, 1994), o que pôde ser claramente observado nas dosagens realizadas. Foi demonstrado que a estimulação do *locus coeruleus* aumenta a liberação de dopamina nesta área, sugerindo que a norepinefrina no córtex pré-frontal estimula a liberação de dopamina nessa área (KAWAHARA *et al.*, 2001). De fato, pôde-se observar que a sincronia entre norepinefrina e dopamina foi mais efetiva nos grupos em que foi administrado etanol e a associação na menor dose, onde as concentrações foram reduzidas e aumentadas, respectivamente. Entretanto, os outros grupos mostraram uma tendência a seguir essa sincronia.

Neurônios dopaminérgicos projetados para o córtex pré-frontal promovem inibição direta e indireta de eferências excitatórias para regiões subcorticais envolvidas na iniciação da atividade motora. Assim, uma transmissão diminuída pode melhorar, enquanto uma transmissão aumentada pode atenuar a resposta a drogas psicoestimulantes (STEKETEE, 2003). Assim, pôde-se observar neste trabalho que o etanol reduziu a concentração de dopamina, e este efeito foi revertido pela associação com aminofilina, possivelmente também pela resposta ainda mais estimulada, através desse mecanismo, à aminofilina, um psicoestimulante. Importante lembrar que este efeito da associação ocorreu na menor dose, também sugerindo que o efeito da aminofilina pode diferir de acordo com a dose administrada.

Considerando os metabólitos analisados, observou-se que a concentração de DOPAC, principal metabólito da dopamina em roedores, foi aumentada na presença de etanol. Este dado sugere um aumento no metabolismo da dopamina. Entretanto, nos grupos de associação as concentrações de DOPAC retornaram a valores semelhantes aos encontrados no grupo controle, mostrando assim que o tratamento com aminofilina reverteu o aumento no índice metabólico da dopamina induzido pelo etanol.

Levando-se em consideração o estresse oxidativo, o cérebro processa grande quantidade de O₂ em uma massa relativamente pequena, e tem uma grande quantidade de substratos disponíveis para oxidação em conjunto com reduzidas atividades oxidantes, fazendo-o extremamente susceptível a danos oxidativos (BERGAMINI *et al.*, 2004). E, muitas regiões do cérebro, por exemplo, substância negra e corpo estriado, têm altas concentrações de ferro (DUGAN & CHOI, 1999). Além disso, algumas regiões do SNC como o corpo estriado e hipocampo, podem ser particularmente sensíveis ao estresse oxidativo por causa de seus baixos níveis de vitamina E endógena, um importante antioxidante bioquímico, relativamente a outras regiões cerebrais (GOTTLIEB *et al.*, 2006).

Estudos têm demonstrado que danos cerebrais induzidos pelo etanol estão associados com a peroxidação lipídica, a qual interrompe a integridade estrutural e as funções da membrana da célula (NORDMANN *et al.*, 1992; OSTROWSKA *et al.*, 2004). Além disso, a estimulação da atividade do citocromo P450 monooxigenase pela ingestão de etanol é acompanhada pela formação aumentada de malonildialdeído microssomal. Assim, os níveis de malonildialdeído

podem ser utilizados como marcadores biológicos do estresse oxidativo provocado pelo etanol (DAS *et al.*, 2003; WISNIEWSKA-KNYPL & WRONSKA-NOFER, 1994).

No presente estudo, o etanol aumentou a concentração de MDA, mostrando uma característica de estresse oxidativo, entretanto, isto foi estatisticamente diferente do controle apenas no hipocampo. Bellissimo *et al.* (2001) mostrou que o hipocampo é extremamente sensível aos efeitos do estresse oxidativo comparado com o córtex e cerebelo. Essa maior susceptibilidade do HC ao estresse em comparação com outras áreas cerebrais pode ser explicada em base do diferente suprimento sanguíneo à essas regiões (ERECINSKA & SILVER, 1996). Além disso, o etanol também aumentou a atividade da catalase em todas as áreas cerebrais analisadas, confirmando o efeito estressor do etanol (ZIMATKIN & DEITRICH, 1997; CALABRESE *et al.*, 1998; JELSKI *et al.*, 2007). Esse aumento na catalase pode estar relacionado com o metabolismo do etanol a aldeído acético no cérebro e implica em danos cerebrais, sendo também importante em alguns efeitos promovidos pela ingestão de etanol (FONT *et al.*, 2008).

Contrastando com os efeitos do etanol, a aminofilina mostrou um papel antagônico, reduzindo consistentemente o estresse oxidativo, expresso pela redução nos níveis de MDA. Embora a atividade da catalase tenha se mostrado aumentada, na maior dose, no CPF e HC, a administração de aminofilina após o etanol reduziu a mesma em todas as áreas cerebrais, mostrando um efeito neuroprotetor contra os danos celulares causados pelo etanol. A atividade antioxidante da aminofilina foi demonstrada em estudos *in vivo* e *in vitro* (LAPENNA *et al.*, 1995; KANG *et al.*, 1998), e antagonistas de receptores A_{2A} também são conhecidos por promover proteção contra os danos cerebrais causados por toxinas, bem como proteger a célula contra danos gerados por espécies reativas de oxigênio (BISHNOI *et al.*, 2007). Outrossim, a teofilina, composto ativo mais abundante na aminofilina, também preveniu o aumento na peroxidação lipídica e diminuição nos níveis de glutathione reduzida no córtex e estriado quando co-administrada com haloperidol, no qual o tratamento resultou em um significativo aumento na peroxidação lipídica e diminuição nos níveis de glutathione reduzida (BISHNOI *et al.*, 2007).

Yang *et al.* (2007) realizou um estudo em humanos avaliando os efeitos da aminofilina em diferentes biomarcadores séricos em indivíduos expostos agudamente a elevadas altitudes. A aminofilina mostrou um efeito antioxidante em alguns parâmetros de estresse oxidativo, como superóxido dismutase, catalase e

dióxido de hidrogênio. Tais parâmetros aumentaram quando os indivíduos foram expostos a elevadas altitudes, mas tiveram um aumento menor nos indivíduos que receberam aminofilina. Este fato sugere um efeito antioxidante da aminofilina em elevadas altitudes, e isso também poderia ser aplicado em células expostas a outros tipos de estresse, como o observado pelo etanol.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que o etanol e a aminofilina apresentam efeitos opostos para quase todos os parâmetros observados, e que a administração de aminofilina após o tratamento com etanol é capaz de bloquear a redução da atividade exploratória e efeitos depressores produzidos pelo etanol, provavelmente agindo através de vias noradrenérgicas e dopaminérgicas no córtex pré-frontal, além de diminuir o estresse oxidativo induzido por etanol, sugerindo um novo alvo para o bloqueio dos efeitos depressores e oxidantes do etanol.

REFERÊNCIAS

ABDETRAN (2008). Disponível em: <<http://portal.detran.ce.gov.br/educacao/o-alcool>>.

AGUIAR, L.M.V.; MACEDO, D.S.; VASCONCELOS, S.M.M.; FREITAS, R.M.; SOUSA, F.C.F.; VIANA, G.S.B. Neuroprotective effects of caffeine in the model of 6-hydroxydopamine lesion in rats. **Pharm, Biochem and Behav**, 84:415-419, 2006.

ALLEN-GIPSON, D.S.; JARRELL, J.C.; BAILEY, K.L.; ROBINSON, J.E.; KHARBANDA, K.K.; SISSON, J.H.; WYATT, T.A. Ethanol Blocks Adenosine Uptake via Inhibiting the Nucleoside Transport System in Bronchial Epithelial Cells. **Alcohol Clin Exp Res**, 33:791–798, 2009.

ALTIMARI, L.R.; CYRINO, E.S.; ZUCAS, S.M.; OKANO, A.H.; BURINI, R.C. Cafeína: ergogênico nutricional no esporte. **Rev. Bras. Ciên. e Mov.**, 9:57-64, 2001.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim. Behav.**, 21:205-235, 1973.

AROLFO, M.P; YAO, L; GORDON, A.S; DIAMOND, I; JANAK, P.H. Ethanol operant self administration in rats is regulated by adenosine A2 receptors. **Alcohol Clin Exp Res**, 28:1308-1316, 2004.

AUCHAMPACH, J.A; KRECKLER, L.M; WAN, T.C; MAAS, J.E; VAN DER HOEVEN D; GIZEWSKI, E; NARAYANAN, J; MAAS, G.E. Characterization of the A2B adenosine receptor from mouse, rabbit, and dog. **J Pharmacol Exp Ther**. 13, 2009.

BARNES, J.B.; RODGER, I.W.; THOMSON, N.C. **Asthma: Basic Mechanisms and Clinical Management**. 3^a ed. Londres: Academic Press, 1998.

BARWICK, V.S.; DAR, M.S. Adenosinergic modulation of ethanol induced motor incoordination in the rat motor cortex. **Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, 22:587– 607, 1998.

BELLISSIMO, M.I.; AMADO, D.; ABDALLA, D.S.; FERREIRA, E.C.; CAVALHEIRO, E.A.; NAFFAH-MAZZACORATTI, M.G. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase activities and the hydroperoxide concentration are modified in the hippocampus of epileptic rats. **Epilepsy Res**, 46:121-128, 2001.

BERGAMINI, C.M.; GAMBETTI, S.; DONDI, A.; CERVELLATI, C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. **Curr. Pharm. Des.**, 10:111-112, 2004.

BILBAO, A; CIPPITELLI, A; MARTÍN, A.B; GRANADO, N; ORTIZ, O; BEZARD, E; CHEN, J.F; NAVARRO, M; RODRÍGUEZ DE FONSECA, F; MORATALLA, R. Absence of quasi-morphine withdrawal syndrome in adenosine A2A receptor knockout mice. **Psychopharm**, 185:160–168, 2006.

BISHNOI, M.; CHOPRA, K.; KULKARNI, S.K. Theophylline, adenosine receptor antagonist prevents behavioral, biochemical and neurochemical changes associated with an animal model of tardive dyskinesia. **Pharm Reports**, 59:181-191, 2007.

BOERNGEN-LACERDA R.; SOUZA-FORMIGONI ML. Does the increase in locomotion induced by ethanol indicate its stimulant or anxiolytic properties? **Pharmacol Biochem Behav**, 67:225-232, 2000.

BURNSTOCK, G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. **Physiol Rev**, 87(2):659-797, 2007.

BRAND, A.; VISSIENNON, Z.; ESCHKE, D.; NIEBER, K. Adenosine A1 and A3 receptors mediate inhibition of synaptic transmission in rat cortical neurons. **Neuropharmacology**, 40:85–95, 2001.

BUENO, M.A.S. Papel atual das metilxantinas (aminofilina e teofilina) nas doenças respiratórias. **Einstein**, 1:141-142, 2003.

CABRE, M; COMPS, J.; PATERNAIN, J.L.; FERRE, N.; JOVEN, J. Time course of changes in hepatic lipid peroxidation and glutathione metabolism in rats with carbon tetrachloride- induced cirrhosis. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 27: 694-699, 2000.

CALABRESE, V.; RENIS, M.; CALDERONE, A.; RUSSO, A.; REALE, S.; BARCELLONA, M.L.; RIZZA, V. Stress proteins and SH-groups in oxidant-induced cellular injury after chronic ethanol administration in rat. **Free Radic Biol Med**. 24:1159–1167, 1998.

CARAMORI, G.; PAPI, A. Oxidants and asthma. **Thorax**, 59:170-173, 2004.

CARBONI, S.; ISOLA, R.; GESSA, G.L.; ROSSETTI, Z.L. Ethanol prevents the glutamate release induced by N-methyl-D-aspartate in the rat striatum. **Neurosci. Lett**, 152:133-136, 1993.

CASTILLO, T.; KOOP, D. R.; KAMIMURA, S.; TRIADAFILOPOULOS, G.; TSUKAMODO, H. Role of cytochrome P-450 2E ethanol-carbon tetrachloride- and iron- dependent microsomal lipid peroxidation. **Hepatology**, 16:992-996, 1992.

CIEŚLAK, M.; KOMOSZYŃSKI, M.; WOJTCZAK, A.; Adenosine A(2A) receptors in Parkinson's disease treatment. **Purinergic Signal**, 4(4):305-12, 2008.

COMHAIR, S.A.; ERZURUM, S.C. Antioxidant response to oxidant-mediated lung diseases. **Am J Physiol Lung Cell and Mol Physiol**, 283:246- 255, 2002.

CORDÁS, T.A. **Depressão: da Bile Negra aos Neurotransmissores: uma Introdução Histórica**. São Paulo: Lemos Editorial, 2002.

CORODIMAS, K. P.; H. TOMITA. Adenosine A1 receptor activation selectively impairs the acquisition of contextual fear conditioning in rats. **Behav Neurosci**, 115:1283-1290, 2001.

CRISTÓVÃO-FERREIRA, S.; VAZ, S.H.; RIBEIRO, J.A.; SEBASTIÃO, A.M. Adenosine A2A receptors enhance GABA transport into nerve terminals by restraining PKC inhibition of GAT-1. **J Neurochem.**, Feb 7, 2009.

CUNHA, R. A. Adenosine as a neuromodulator and as a homeostatic regulator in the nervous systems: different roles, different sources and different receptors. **Neurochem Int**, 38:107-25, 2001.

CUNHA, R.A. Neuroprotection by adenosine in the brain: from A1 receptor activation to A2A receptor blockade. **Purinergic Signal**, 1:111–134, 2005.

CUNHA, G.M; CANAS, P.M; MELO, C.S; HOCKEMEYER, J; MÜLLER, C.E; OLIVEIRA, C.R; CUNHA, R.A. Adenosine A2A receptor blockade prevents memory dysfunction caused by beta-amyloid peptides but not by scopolamine or MK-801. **Exp Neurol**, 210(2):776-781, 2008.

DALL'IGNA, O. P; FETT, P; GOMES, M.W; SOUZA, D.O; CUNHA, R.A & LARA, D.R. Caffeine and adenosine A(2a) receptor antagonists prevent beta-amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. **Exp Neurol**, 203:241-245, 2007.

DAR, M.S. Modulation of ethano-induced motor incoordination by mouse striatal A1 adenosinergic receptor. **Brain Res. Bull**, 55, 513–520, 2001.

DAS, S.K.; NAYAK, P.; VASUDEVAN, D.M. Biochemical markers for alcohol consumption. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, 18:111–118, 2003.

DAHCHOUR, A.; DE WITTE, P. Ethanol and amino acids in the central nervous system: assessment of the pharmacological actions of acamprosate. **Progress in Neurobiology**, 60:343-362, 2000.

DEITRICH, R; ZIMATKIN, S; AND PRONKO S. Oxidation of ethanol in the brain and its consequences. **Alcohol Research & Health**, 29(4):266–273, 2006.

DETRAN (2009). Disponível em: <<http://www.casacivil.ce.gov.br/noticias/detran-ce-notifica-1.127-motoristas-com-alcool-no>>.

DICK, D.M.; FOROUD, T. Candidate genes for alcohol dependence: a review of genetic evidence from human studies. **Alcohol Clin Exp Res**, 27:868-879, 2003.

DING, Z. M.; TOALSTON, J. E.; OSTER, S. M.; McBRIDE, W. J.; RODD, Z. A. Involvement of local serotonin-2A but not serotonin-1B receptors in the reinforcing effects of ethanol within the posterior ventral tegmental area of female Wistar rats. **Psychopharmacology** (Berl). Jan 23, 2009.

DRURY, A.N.; SZENT-GYÖÈ RGYI, A. The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart. **J. Physiol**, 68:213-237, 1929.

DUGAN, L.L.; CHOI, D.W. **Hypoxic-ischemic brain injury and oxidative stress**. In: Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects. Siegel, G.J., Agranoff, B.W., Alberts, E.W., Fisher, S.K. and Uhler, M.D. (eds.). 6^a ed. Williams & Wilkins, Lippincott, Baltimore. 722-723. 1999.

DUNWIDDIE, T.V.; HAAS, H.L. Adenosine increases synaptic facilitation in the in vitro rat hippocampus: evidence for a presynaptic site of action. **J Physiol**, 369:365-377, 1985.

EDENBERG, H.J. The genetics of alcohol metabolism: Role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. **Alcohol Research & Health**, 30(1):5–13, 2007.

EJZENBERG, B.; RODRIGUES, A.J.; OLIVEIRA, C.A.C. de; POMMER, V.M.; BALDACCI, E.R. Broncodilatadores na prática pediátrica. **Pediatr**, 2:21-37, 1980.

EL YACOUBI, M.; LEDENT, C.; PARMENTIER, M.; BERTORELLI, R.; ONGINI, E.; COSTENTIN, J.; VAUGEOIS, JM. Adenosine A2A receptor antagonists are potential antidepressants: evidence based on pharmacology and A2A receptor knockout mice. **Br J Pharmacol**, 134:68-77, 2001.

EL YACOUBI, M.; COSTENTIN, J.; VAUGEOIS, J.M. Adenosine A2A receptors and depression. **Neurology**, 61(Suppl 6):82–87, 2003.

ERECINSKA, M.; SILVER, I.A. **Calcium handling by hippocampal neurons under physiologic and pathologic condition**. In: Advances in Neurology. Cellular and Molecular Mechanism of Ischemic Brain Damage. Edited by Seisjo BK, Wieloch, T. vol. 71. Philadelphia: Lippincott Raven Publisher ; p.119-131, 1996.

FERNANDES, N.; FERNANDES, V. Criminologia Integrada. *Revista dos Tribunais*. 2 ed. São Paulo. **Toxicomanias**, 679-729, 2002.

FERRÉ, S.; BORYCZ, J.; GOLDBERG, S.R.; HOPE, B.T.; MORALES, M.; LLUIS, C.; FRANCO, R.; CIRUELA, F.; CUNHA, R. Role of adenosine in the control of homosynaptic plasticity in striatal excitatory synapses. **J. Integr. Neurosci**, 4:445–464, 2005.

FISONE, G.; BORGKVIST, A.; USIELLO, A. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. **Cell Mol Life Sci**, 61:857–872, 2004.

FIGUEIRA, I. Etanol e Bebidas Alcoólicas. Pode a actividade farmacológica do álcool explicar a diversidade de efeitos nos diferentes sistemas? **RFML**, 7(4):165-171, 2002.

FILLMORE, M.T. Alcohol tolerance in humans is enhanced by prior caffeine antagonism of alcohol-induced impairment. **Exp Clin Psychopharmacol**, 11:9-17, 2003.

FONT, L.; MIQUEUL, M.; ARAGON, C.M. Involvement of brain catalase activity in the acquisition of ethanol-induced conditioned place preference. **Physiol Behav**, 18:733-741, 2008.

FREDHOLM, B.B.; IJZERMAN, A.P.; JACOBSON, K.A.; KLOTZ, K.; LINDEN, J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. **Pharmacol** v. 53, p. 527-552, 2001.

FREDHOLM, B.B.; CHEN, J.F.; CUNHA, R.A.; SVENNINGSSON, P.; VAUGEOIS, J.M. Adenosine and brain function. **Int Rev Neurobiol**, 63:191–270, 2005.

FUXE, K.; FERRÉ, S.; CANALS, M.; TORVINEN, M.; TERASMAA, A.; MARCELLINO, D.; GOLDBERG, S.R.; STAINES, W.; JACOBSEN, K.X.; LLUIS, C.; WOODS, A.S.; AGNATI, L.F.; FRANCO, R. Adenosine A2A and dopamine D2 heteromeric receptor complexes and their function. **J Mol Neurosci**, 26:209-220, 2005.

FUXE, K.; FERRÉ, S.; GENEDANI, S.; FRANCO, R.; AGNATI, L.F. Adenosine receptor-dopamine receptor interactions in the basal ganglia and their relevance for brain function. **Physiol Behav**, 92(1-2):210-217, 2007.

GIMÉNEZ-LLORT, L.; FERNÁNDEZ-TERUEL, A.; ESCORIHUELA, R.M.; FREDHOLM, B.B.; TOBEÑA, A.; PEKNY, M.; JOHANSSON, B. Mice lacking the adenosine A1 receptor are anxious and aggressive, but are normal learners with reduced muscle strength and survival rate. **Eur J Neurosci**, 16:547–550, 2002.

GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 2006.

GOTTLIEB, M.; LEAL-CAMPANARIO, R.; CAMPOS-ESPARZA, M.R.; SÁNCHEZ-GÓMEZ, M.V.; ALBERDI, E.; DELGADO-GARCÍA, J.M.; GRUAT, A.; MATUTE, C. Neuroprotection by two polyphenols following excitotoxicity and experimental ischemia. **Neurobiol. Dis**, 23:374-386, 2006.

GRAHAM, D.G. Oxidation pathways for catecholamines in the Genesis of neuromelanin and cytotoxic quinines, **Mol. Pharmacol**, 14:633-643, 1978.

GUTIÉRREZ, J.M.; CANO, R.P. **Hígado y alcohol: hepatitis alcohólica**. Madrid: Editorial Castalia, 1978.

GULATI K.; RAY A.; VIJAYAN VK. Free radicals and theophylline neurotoxicity : an experimental study. **Cell Mol Biol**, 53(5):42-52, 2007.

GUNDLFINGER A.; BISCHOFBERGER J.; JOHENNING F.W.; TORVINEN M.; SCHMITZ D.; BREUSTEDT J. Adenosine modulates transmission at the hippocampal mossy fibre synapse via direct inhibition of presynaptic calcium channels. **J Physiol**, 582(Pt 1):263-277, 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in biology and medicine**, New York: Oxford University Press, 1999.

HENRICKS, P.A.; NIJKAMP, F.P. Reactive oxygen species as mediators in asthma. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, 14:409-420, 2001.

HOFFMAN, P.L. Glutamate receptors in alcohol withdrawal-induced neurotoxicity. **Metab. Brain Dis**, 10:73-79, 1995.

HOUCHI, H.; WARNAULT, V.; BARBIER, E.; DUBOIS, C.; PIERREFICHE, O.; LEDENT, C.; DAOUST, M.; NAASSILA, M. Involvement of A2A receptors in anxiolytic, locomotor and motivational properties of ethanol in mice. **Genes Brain Behav**, 7(8):887-98, 2008.

HOWSTUFFWOKS. Disponível em: < <http://carros.hsw.uol.com.br/programa-alcool-brasil1.htm>>

HUANG, L.T.; LIOU, C.W.; YANG, S.N.; LAI, M.C.; HUNG, P.L.; WANG, T.J.; CHENG, S.C.; WU, C.L. Aminophylline aggravates long-term morphological and cognitive damages in status epilepticus in immature rats. **Neuroscience Letters**, 321:137-140, 2002.

HUONG, N.T.T.; MATSUMOTO, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; WATANABE, H. In vitro antioxidant activity of vietnamese Ginseng saponin and its constituents. **Biol Pharm Bull**, 21(9):978-981, 1998.

HUNG, P.L.; LAI, M.C.; YANG, S.N.; WANG, C.L.; LIOU, C.W.; WU, C.L.; WANG, T.J.; HUANG, L.T. Aminophylline exacerbates status epilepticus-induced neuronal damages in immature rats: a morphological, motor and behavioral study. **Epilepsy Research**, 49:218-225, 2002.

HUNT, W.A.; MAJCHROWICZ, E. Studies of neurotransmitter interactions after acute and chronic ethanol administration. **Pharmacol Biochem Behav** 18:371-374, 1983.

HUTTUNEN, P. Microdialysis of extracellular noradrenaline in the hippocampus of the rat after long-term alcohol intake. **Brain Research**, 560:225-228, 1991.

IMPAGNATIELLO, F.; BASTIA, E.; ONGINI, E.; MONOPOLI, A. Adenosine receptors in neurological disorders. **Emerg. Ther. Targets**, 4:635–664, 2000.

JACOBSON, K.A. Adenosine A3 receptors: novel ligands and paradoxical effects. **Trends Neurosci**, 19:184–191, 1998.

JELSKI, W.; GROCHOWSKA-SKIBA, B.; SZMITKOWSKI, M. Alcohol dehydrogenase and the metabolism of ethanol in the brain. **Postepy Hig Med Dosw (Online)**, 61:226-230, 2007.

JUNGNICKEL, P.W. **Alcohol abuse**. In: Koda-Kimble, M.A. & Young, L.Y. Applied therapeutics – the clinical use of drugs. USA: Lippincott Williams & Wilkins, p. 83.1-83.17, 2001.

KANG, M.Y.; TSUCHIVA, M.; PACKER, L.; MANABE, M. In vitro study on antioxidant potential of various drugs used in the perioperative period. **Acta Anaesthesiol Scand**, 42(1):4-12, 1998.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 10^a ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill-Artmed, 2010.

KAWAHARA, H.; KAWAHARA, Y.; WESTERINK, B.H. The noradrenaline-dopamine interaction in the rat medial prefrontal cortex studied by multi-probe microdialysis. **Eur J Pharmacol**, 418:177–186, 2001.

KIENAST, T.; HEINZ, A. Dopamine and the diseased brain. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, 5:109-131, 2006.

KOOB, G.F.; Le MOAL, M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. **Neuropsychopharm**, 24:97-129, 2001.

KNUTSEN, L.J.S.; MURRAY, T.F. Adenosine and ATP in epilepsy. In: Jacobson KA, Jarvis MF, eds. **Purinergic approaches in experimental therapeutics**. New York: Wiley Liss, 423–447, 1997.

KULKARNI, S.K.; SINGH, K.; BISHNOI, M. Involvement of adenosinergic receptors in anxiety related behaviours. **Indian J Exp Biol**, 45(5):439-443, 2007.

LAPENNA, D.; DE GIOIA, S.; MEZZETTI, A.; CIOFANI, G.; FESTI, D.; CUCCURULLO, F. Aminophylline: could it act an antioxidant in vivo? **Eur J Clin Invest**, 25:464-470, 1995.

LARANJEIRA R, organizador. **I Levantamento nacional sobre os padrões de consumo de álcool na população brasileira**. Brasília: Secretaria Nacional Antidrogas; 2007.

LE MARQUAND, D.; PIHL, R.O.; BENKELF, A.T.C. Serotonin and alcohol intake, abuse, and dependence: Clinical evidence. **Biol. Psychiatry**, 36:395-421, 1994.

LIMA, J.M.B. **Alcoologia** - uma visão sistêmica dos problemas relacionados ao uso e abuso do álcool. Rio de Janeiro: UFRJ, 2003.

LINDEN, J. Molecular approach to adenosine receptors: receptor-mediated mechanisms of tissue protection. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, 41:775-787, 2001.

LINGFORD-HUGHES, A.; NUTT, D. Neurobiology of addiction and implications for treatment. **Br J Psychiatry**, 182:97-100, 2003.

LOWRY, H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurements with the follin phenol reagent, **J. Biol. Chem**, 193:265–275, 1951.

MAEHLY, A. C.; AND CHANCE, B. The assay catalases and peroxidases, **Methods Biochem. Anal**, 1:357–359, 1954.

MAJOR, G.N.; COLLIER, J.D. Repair of DNA lesion O6-methylguanine in hepatocellular carcinogenesis. **Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery**, 5:355-366, 1998.

MANCINI, M.C.; HALPERN, A. Tratamento Farmacológico da Obesidade. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab**, 46(5):497-513, 2002.

MASINO, S.A.; DUNWIDDIE, T.V. **Role of purines and pyrimidines in the central nervous system**. In: Abbracchio MP, Williams M, eds. Purinergic and pyrimidinergic signaling. I. Molecular, nervous and urogenitary system function handbook of experimental pharmacology, vol 151/I. Heidelberg: Springer-Verlag, p.251–287, 2001.

MASTERS, S.B. **Os alcoóis**. In: B.G. Katzung, Farmacologia Básica & Clínica, 9 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 309-318, 2006.

MCKERNAN, R.M.; WHITING, P.J. Which GABA receptors subtypes really occur in the brain? **Trends Neuroscience**, 19:139-143, 1996.

MCINTOSH C.; CHICK J. Alcohol and the nervous system. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, 75:16–21, 2004.

MELIN, A.M.; PERROMAT, A.; DELERIS, G. Pharmacologic application of Fourier transform IR spectroscopy: in vivo toxicity of carbon tetrachloride on rat liver. **Biopolymers**, 57:160-168, 2000.

MEYER, P.T.; ELMENHORST, D.; BOY, C.; WINZ, O.; MATUSCH, A.; ZILLES, K.; BAUER, A. Effect of aging on cerebral A1 adenosine receptors: A [18F]CPFPX PET study in humans. **Neurobiol Aging**, 28(12):1914-1924, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Saúde Brasil 2007: uma análise da situação de saúde**. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.

MOURA, D. **Etanol**. In: Osswald, W & Guimarães, S. Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas – Manual de farmacologia e farmacoterapia. Porto: Porto Editora, p. 108-118, 2001.

MUNAFÒ, M.; JOHNSTONE, E.; MURPHY, M.; WALTON, R. New directions in the genetic mechanisms underlying nicotine addiction. **Addict Bio**, 6:109-117, 2001.

NAKADA, T.; KWEE, I.L.; LERNER, A.M.; REMLER, M.P. Theophylline-induced seizures: clinical and pathophysiologic aspects. **West J Med**, 138:371–374, 1983.

National Highway Traffic Safety Administration (NHTSA). *Motor Vehicle Traffic Crash Fatalities and Injuries: 2005 Projections*. [Article online]. NHTSA's National Center for Statistics and Analysis. Available at: <http://www-nrd.nhtsa.dot.gov/pdf/nrd-30/NCSA/PPT/2006/810583.pdf>, 2006.

NARIMATSU, E.; AOKI, M. Involvement of the adenosine neuromodulatory system in the benzodiazepine-induced depression of excitatory synaptic transmissions in rat hippocampal neurons in vitro. **Neuroscience Research**, 33:57-64, 1999.

NARIMATSU, E.; AOKI, M. Transient depression of excitatory synaptic transmission induced by adenosine uptake inhibition in rat hippocampal slices. **Brain Research**, 862:284-287, 2000.

NEWBY, A.C. Adenosine and the concept of a retaliatory metabolite. **Trends Biochem Sci**, 9:42-44, 1984.

NORDMANN, R.; RIBIERE, C.; ROUACH, H. Implication of free radical mechanisms in ethanol induced cellular injury. **Free Radic Biol Med**, 12:219-240, 1992.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO News – Bulletin of World Health Organization**. Editor: John Maurice, v. 79, n. 11, p. 1088-1089, 2001. Disponível em: <www.who.int/whr> acessado em: 15 fev. 2008.

OSTROWSKA, J.; ŁUCZAJ, W.; KASACKA, I.; ROZAN'SKI, A.; SKRZYDLEWSKA, E. Green tea protects against ethanol-induced lipid peroxidation in rat organs. **Alcohol**, 32:25-32, 2004.

PREDIGER, R. D. S.; BATISTA, L.C.; TAKAHASHI, R. N. Adenosine A1 receptors modulate the anxiolytic-like effect of ethanol in the elevated plus-maze in mice. **European Journal of Pharmacology**, 499:147-154, 2004.

PREDIGER, R.D.S.; BATISTA, L.C.; TAKAHASHI, R.N. Caffeine reverses age-related deficits in olfactory discrimination and social recognition memory in rats. Involvement of adenosine A1 and A2A receptors. **Neurobiol Aging**, 26:957-964, 2005a.

PREDIGER, R.D.; TAKAHASHI, R. N. Modulation of short-term social memory in rats by adenosine A1 and A (2A) receptors. **Neurosci Lett**, 376:160-165, 2005b.

PREDIGER, R.D.S.; SILVA, G.E.D.A.; Batista L.C.; BITTENCOURT, A.L.; TAKAHASHI, R.N. Activation of adenosine A1 receptors reduces anxiety-like behavior during acute ethanol withdrawal (hangover) in mice. **Neuropsychopharmacology**, 10:2210-2220, 2006.

PRIOR, R.L.; CAO, G. In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology and Medicine**, 27:1173-1181, 1999.

PORSOLT, R.D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. 'Behavior despair' in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. **Eur. J. Pharmacol**, 52:291-294, 1978.

QUERTEMONT, E.; DIDONE, V. Role of acetaldehyde in mediating the pharmacological and behavioral effects of alcohol. **Alcohol Research & Health**, 29(4):258–265, 2006.

RAHMAN, I.; MORRISON, D.; DONALDSON, K.; MACNEE, W.; RECKMAGE, R.O.; GLENDE, E.A.; DOLAK, J.A.; WALLER, R.L. Mechanism of carbon tetrachloride toxicity. **Pharmacology and Therapeutics**, 43:139-154, 1989.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. **Rang & Dale Farmacologia**. 6th ed. Brazil: Elsevier. 2007.

ROCHA, L.G.; MEDEIROS FILHO, J.G. Monitoração da teofilina em crianças asmáticas desnutridas. **Pediatria**, 23(3):217-222, 2001.

REYNOLDS, J.D.; BRIEN, J.F. The role of adenosine A1 receptor activation in ethanol-induced inhibition of stimulated glutamate release in the hippocampus of the fetal and adult guinea pig. **Alcohol**, 12:151–157, 1995.

RIBEIRO, J. A.; SEBASTIÃO, A.M.; DE MENDONÇA, A. Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications. **Prog. Neurobiol**, 68:377-391, 2003.

RODRIGUES, R.J.; ALFARO, T.M.; REBOLA, N.; OLIVEIRA, C.R.; CUNHA, R.A. Co-localization and functional interaction between adenosine A and metabotropic group 5 receptors in glutamatergic nerve terminals of the rat striatum. **J. Neurochem**, 92:433–441, 2005.

ROMANOWSKA, M.; KOMOSZYŃSKI, M. Adenosine – neurotransmitter and neuromodulator in central nervous system. **Prog Biochem**, 48:230–238, 2002.

ROSIN, D.L.; HETTINGER, B.D.; LEE, A.; LINDEN, J. Anatomy of adenosine A2A receptors in brain: morphological substrates for integration of striatal function. **Neurology**, 9:61(11 Suppl 6):S12-18, 2003.

ROSSETTI, Z.L.; LONGU, G.; MERCURO, G.; HMAIDAN, Y.; GESSA, G.L. Biphasic effect of ethanol on noradrenaline release in frontal cortex of awake rats. **Alcohol**, 27:477-480, 1992.

SALVEMINI, D.; CUZZOCREA, S. Superoxide, superoxide dismutase and ischemic injury. **Current Opinion in Investigational Drugs**, 3:886-895, 2002.

SAWYNOK, J.; LIU, X.J. Adenosine in the spinal cord and periphery: release and regulation of pain. **Prog Neurobiol**, 69(5):313-340, 2003.

SCHUCKIT, M. A. **Alcohol y Alcoholismo**. In: KASPER D. L.; FAUCI A.S.; LONGO D. L. Harrison Principios de Medicina Interna. 16^o edición. México: Mac Graw Hill, 2005.

SEITZ, H. K.; STICKEL, F. Molecular mechanisms of alcohol mediated carcinogenesis. **Nature Review Cancer**, 7:599-612, 2007.

SHARKO, A.C.; HODGE, C.W. Differential modulation of ethanol-induced sedation and hypnosis by metabotropic glutamate receptor antagonists in C57BL/6J mice. **Alcohol Clin Exp Res**, 32:67-76, 2008.

SHEFNER, S.A.; CHIU, T.H. Adenosine inhibits locus coeruleus neurons: an intracellular study in a rat brain slice preparation. **Brain Res**, 366:364-368, 1986.

SIGMA ALDRICH. Aminophylline. Disponible em:
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?lang=en&N4=A1755|SIGMA&N5=SEARCH_CONCAT_PNO|BRAND_KEY&F=SPEC>

SIGMA ALDRICH. Adenosine. Disponible em:
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/ProductDetail.do?lang=en&N4=A9251|SIGMA&N5=SEARCH_CONCAT_PNO|BRAND_KEY&F=SPEC>

SIMSON, P.E.; CRISWELL, H.E.; BREESE, G.R. Inhibition of NMDA-evoked electrophysiological activity by ethanol in selected brain regions: evidence for ethanol-sensitive and ethanol-insensitive NMDA-evoked responses, **Brain Res**. 607:9-16, 1993.

SOARES, P.M.; VASCONCELOS, S.M.M.; SOUSA, F.C.F.; PATOCINIO, M.C.A.; ASSEREUY, A.M.S.; CARVALHO, K.M.; ESCUDEIRO, S.S.; LIMA, N.M.; VIANA, G.S.B. Aminophylline (a theophylline-ethylenediamine complex) blocks ethanol behavioral effects in mice. **Behavioural Pharmacology**, 20(4):297-302, 2009.

SPINETTA, M.J.; WOODLEE, M.T.; FEINBERG, L.M.; STROUD, C.; SCHALLERT, K.; CORMACK, L.K.; SCHALLERT, T. Alcohol-induced retrograde memory impairment in rats: prevention by caffeine. **Psychopharmacology**, 20:1361–371, 2008.

STAHL, S.M. Selecting an antidepressant by using mechanism of action to enhance efficacy and avoid side effects. **J. Clin. Psychiatry**, 18:23-29, 1998.

STEKETEE, J.D. Neurotransmitter systems of the medial prefrontal cortex: potential role in sensitization to psychostimulants. **Brain Res Rev** 41:203-228, 2003.

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. Tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, 85:367-370, 1985.

STOCKLEY, I.H. **Drug interactions**. London: Pharmaceutical Press, 2000.

STONE, T.W.; JONES, P.A.; SMITH, R.A. Neuroprotection by A2A receptor antagonists. **Drug Dev Res**, 52:323–330, 2001.

TAKAHASHI, R.N.; PAMPLONA F.A.; PREDIGER, R.D.S. Adenosine receptor antagonists for cognitive dysfunction: a review of animal studies. **Frontiers in Bioscience**, 13:2614-2632, 2008.

TASSIN, J.P.; TROVERO, F.; BLANC, G.; HERVE, D.; GLOWINSKI, J. **Interactions between noradrenaline and dopamine neurotransmission in the rat prefrontal cortex and their consequences on dopaminergic subcortical function**, in: F. Colpaert (Ed.), *Noradrenergic Mechanisms in Parkinson's Disease*, CRC Press, Inc, Boca Raton, p. 107–124, 1994.

TAYLOR, D.A.; STONE, T.W. The action of adenosine on noradrenergic neuronal inhibition induced by stimulation of locus coeruleus. **Brain Res**, 183:367–376, 1980.

THEILE, J.W.; MORIKAWA, H.; GONZALES, R.A.; MORRISETT, R.A. Ethanol enhances GABAergic transmission onto dopamine neurons in the ventral area of the rat. **Alcohol Clin Exp Res**, 32:1040-1048, 2008.

THORSELL, A.; JOHNSON, J.; HEILIG, M. Effect of the adenosine A2A receptor antagonist 3, 7-dimethyl-propargylxanthine on anxiety-like and depression-like behavior and alcohol consumption in Wistar rats. **Alcohol Clin Exp Res**, 31:1302-1307, 2007.

TUPALA, E.; TIIHONEN, J. Dopamine and alcoholism: neurobiological basis of ethanol abuse. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, 28:1221-1247, 2004.

TURAN, A.; MEMIS, D.; KARAMANLIOGLU, B.; COLAK, A.; PAMUKÇU, Z.; TURAN, N. Effect of aminophylline on recovery from sevoflurane anaesthesia. **Eur. J. Anaesthesiol.**, 19(6):452-454, 2002.

VASCONCELOS, S.M.M.; CAVALCANTE, R.A.; AGUIAR, L.M.V.; SOUSA, F.C.F.; FONTELES, M.M.F.; VIANA, G.S.B. Effects of chronic ethanol treatment on monoamine levels in rat hippocampus and striatum. **Braz J Med and Biol Res**, 37:1839-1846, 2004.

VASCONCELOS, S.M.M.; LIMA, N.M.; SALES, G.T.; SOARES, P.M.; Pereira, E.C.; FONTELES, M.M.F.; SOUSA, F.C.F.; VIANA, G.S.B. Determination of amino acid levels in the rat striatum, after administration of ethanol alone and associated with ketamine, a glutamatergic antagonist. **Neuroscience Letters**. Supplement, 444:48-51, 2008.

VIARO, F.; ÉVORA, P.R.B. Expressão das óxido nítrico sintetases na vasculopatia coronariana do transplante cardíaco. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, 15(1):55-65, 2000.

VILPOUX, C.; WARNAULT, V.; PIERREFICHE, O.; DAOUST, M.; NAASSILA, M. Ethanol-Sensitive Brain Regions in Rat and Mouse: A Cartographic Review, Using Immediate Early Gene Expression. **Alcohol Clin Exp Res**, 33(6): 945–969, 2009.

WANKE, T.; MERKLE, M.; ZIFKO, U.; FORMANEK, K.D.; LAHMANN, H.; GRISOLD, W.; ZWICK, H. The effect of aminophylline on the force-length characteristics of the diaphragm. **Am. J. Respir. Crit. Care Med**, 149(6):1545-1549, 1994.

WARDAS, J. Neuroprotective role of adenosine in the CNS. **Pol J Pharmacol**. 54(4):313-26, 2002

WARDAS, J. Potential role of adenosine A2A receptors in the treatment of schizophrenia. **Front Biosci**, 13:4071-4096, 2008.

WEINGARTNER, H.; SILBERMAN, E. Models of cognitive impairment: cognitive changes in depression. **Psychopharmacol** 18:27–42, 1982.

WESTERMEYER, J. Historical and social context of psychoactive substance disorders. In: FRANCIS R.; MILLER S. eds. **Clinical Textbook of Addictive Disorders**. New York, Guilford, 23-40, 1991.

WISNIEWSKA-KNYPL, J.M.; WRONSKA-NOFER, T. Biological markers of oxidative stress induced by ethanol and iron overload in rat. **International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health**, 7:355–363, 1994.

WILLIAMS, M. Chapter 15: Purinergic Neurotransmission. In: **Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress**. Edited by Kenneth L. Davis, Dennis Charney, Joseph T. Coyle, and Charles Nemeroff. American College of Neuropsychopharmacology. 5th ed, Philadelphia, Pa, Lippincott Williams & Wilkins, 2002.

WIRKNER, K.; GEREVICH, Z.; KRAUSE, T.; GUNTHER, A.; KOLES, L.; SCHNEIDER, D.; NOREMBERG, W.; ILLES, P. Adenosine A2A receptor-induced inhibition of NMDA and GABAA receptor-mediated synaptic currents in a subpopulation of rat striatal neurons. **Neuropharmacology**, 46:994–1007, 2004.

YAMAOKA-YANO, D.M.; MAZZAFERA, P. Catabolismo f caffeine and purification of a xanthine oxidase responsible for methyluric acids production in *Pseudomonas putida* L. **Revista de Microbiologia**, 30:62-70, 1999.

YANG, B.; WANG, G.Y.; CHEN, B.; QIN, R.B.; XI, S.L.; CHEN, L. Anti-hypoxia and anti-oxidation effects of aminophylline on human with acute high-altitude exposure. **Chin Med Sci J**, 22:62-65, 2007.

YU, L.; SCHWARZSCHILD, M.A.; CHEN, J.F. Cross-sensitization between caffeine- and L-dopa-induced behaviors in hemiparkinsonian mice. **Neurosci Lett**, 393:31–35, 2006.

ZAKHARI, S. Overview: How is alcohol metabolized by the body? **Alcohol Research & Health**, 29(4):245–254, 2006.

ZAWILSKA, J.B.; ROSIAK, J.; VIVIEN-ROELS, B.; SKENE, D.J.; PÉVET, P.; NOWAK, J.Z. Effects of Cycloheximide and Aminophylline on 5-Methoxytryptophol and Melatonin Contents in the Chick Pineal Gland. **General and Comparative Endocrinology**, 120:212-219, 2000.

ZIMATKIN, S.M.; DEITRICH, R.A. Ethanol metabolism in the brain. **Addict Biol**, 2:387–392, 1997.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)