

PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES GABA B NA MODULAÇÃO DO CONSUMO ETÍLICO EM RATOS WISTAR

Involvement of GABA B receptor on ethylic consumption modulation in Wistar rats

Anderson Proust Gonçalves de Souza¹
Daiane de Paula Barros¹
Luiza Ferreira Ribeiro Tadeu¹
Samir Hemétrio Salles Costa¹
Luciana Valéria Costa e Souza¹
Analina Furtado Valadão²
Jaqueline Melo Soares³
Patrícia Gonçalves da Motta⁴

¹Acadêmicos do curso de Medicina do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/ IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil.

²Farmacêutica. Doutora em Bioquímica e Imunologia - ICB/UFMG. Professora Titular do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/ IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil.

³Veterinária. Doutora em Biologia Celular – ICB/UFMG. Professora Titular do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/ IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil.

⁴Odontóloga. Doutora em Ciências da Saúde- Farmacologia e Fisiologia - ICB/UFMG. Professora Titular do Instituto Metropolitano de Ensino Superior/ IMES - Univaço, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil.

Recebido em: 05/06/2016

Aceito em: 31/08/2016

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

RESUMO

Introdução: o baclofeno, uma droga agonista seletivo de GABA_B, tem sido apontado como uma nova opção de tratamento do etilismo. Neste estudo avaliou-se o efeito do baclofeno no consumo etílico em ratos Wistar. **Materiais e Métodos:** o experimento ocorreu em quatro fases: exposição, abstinência, reexposição e tratamento. Os animais foram alocados em grupos: 1, 2, 3 e 4 ($n=5$ por grupo), expostos à água pura, solução hidroalcoólica (SHA) 5% e SHA 10%; grupo 5 (subdividido em A, B e C $n=5$ por subgrupo) e grupo 6 ($n=5$), ambos expostos a apenas água pura. A administração de baclofeno via

intraperitoneal destinou aos grupos 1, 2, 3 e 5 em diferentes doses. Nos demais grupos, administrou-se placebo. Aferiu-se o consumo das soluções em todas as fases, para fins comparativos. **Resultados:** o baclofeno, na dose de 1mg/Kg, reduziu o consumo de SHA 10% no grupo 1, que apresentou maior consumo etílico durante o experimento. Os demais grupos apresentaram menor consumo das SHA ofertadas, sem redução da ingesta etílica após administração da droga nas doses de 2 e 3mg/Kg. **Conclusão:** baclofeno reduziu etilismo apenas em animais com maior consumo etílico prévio à sua administração. O peso dos animais não foi fator determinante na resposta à droga. A dose efetiva no tratamento dos efeitos da privação alcoólica foi a de menor concentração (1mg/kg).

Palavras-chave: Ratos Wistar. Baclofeno. Etilismo. Receptor GABA B.

ABSTRACT

Introduction: *Baclofen, a GABA B agonist, has been pointed as a new drug on the alcohol consumption treatment. This study has evaluated baclofen's effect on ethanol consumption in Wistar rats.* **Materials and Methods:** *four phases protocol: exposure, abstinence, re-exposure and treatment. Animals were allocated into groups: 1, 2, 3 and 4 (n=5 per group), exposed to pure water, 5% ethanol solution and 10% ethanol solution. Group 5 (subdivided into A, B and C, n=5 by subgroup) and group 6 (n=5), exposed to pure water. Baclofen intraperitoneal administration was destined to groups 1, 2, 3 and 5 (A, B and C) in different doses. The remaining groups received saline solution as control. Solutions consumption was assessed in all phases for comparative purposes.* **Results:** *Baclofen at 1mg/Kg reduced the 10% (vv) water-alcohol consumption in animals from Group 1, which also presented greater ethanol consumption during the experiment. The other groups showed a lower water - alcohol consumption and did not show an ethanol intake reduction after the drug administration in both 2 and 3mg/Kg doses.* **Conclusion:** *Baclofen only reduces alcoholism in animals with higher ethanol consumption. Animals weight is not a determining factor in ethanol consumption or in baclofen response. The effective baclofen dose in treating the deprivation alcohol effects was observed in the lowest concentration, corresponding to 1mg/Kg dose.*

Key-words: *Wistar Rats. Baclofen. Alcoholism. GABA B Receptor.*

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

INTRODUÇÃO

O uso inapropriado de bebidas alcoólicas é um grave problema de saúde pública, repercutindo na saúde física e mental das pessoas. Depressão, ansiedade, demência, distúrbios gastrintestinais são algumas das doenças induzidas pelo uso abusivo do álcool (ROOM, 2013).

Evidências científicas sugerem que o álcool potencializa os efeitos do ácido gama-aminobutírico (GABA), principal substância inibitória do sistema nervoso central (SNC), o que explicaria sua ação ansiolítica e lentificadora do processamento cognitivo dos usuários. Porém, o uso crônico do álcool reduz o número de receptores GABA por regulação negativa, o que explicaria o efeito de tolerância ao álcool e o fato dos indivíduos necessitarem de doses maiores de álcool para obterem os mesmos sintomas anteriormente obtidos com doses menores (ROBERTO; SIGGINS, 2006).

O neurotransmissor GABA participa da regulação de mecanismos fisiológicos, sendo responsável por um terço das transmissões sinápticas que ocorrem no SNC. É conhecido por interagir com vários sítios receptores nas membranas neuronais, exercendo sua atividade ao interagir com receptores GABA_A, GABA_B e GABA_C (KINJO *et al.*, 2013).

Os principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos no uso abusivo de álcool, assim como as principais drogas estudadas até o momento para o tratamento da Síndrome de Abstinência Alcoólica estão fundados em estudos referentes ao receptor GABA_A, tais como benzodiazepínicos e barbitúricos (HOBBS; RALL; VERDOORN, 1996). O GABA também ativa receptores GABA_B distribuídos no SNC e nas terminações autonômicas periféricas. A sua ativação inibe a atividade da adenilato-ciclase. Esses receptores estão acoplados através das proteínas G aos canais neuronais de íons K⁺ ou Ca⁺⁺, sendo que sua ativação aumenta a condutância de potássio ou o decréscimo da condutância de cálcio, modulando a inibição sináptica lenta nas membranas neurais (GHOSE *et al.*, 2011).

Nos últimos anos, novas drogas atuantes em receptores GABA foram desenvolvidas, porém nenhuma obteve sucesso pleno na terapêutica do etilismo. O baclofeno, um agonista seletivo de GABA_B, tem sido apontado como uma opção de tratamento, quando administrado em animais por via intravenosa ou intracerebroventricular (MÜLLER *et al.*, 2014).

O baclofeno é estruturalmente semelhante ao GABA, possuindo mais um grupo clorofenil, que promove maior lipossolubilidade⁶. É um antiespástico de ação medular, entretanto atravessa com di-

ficuldade a barreira hematoencefálica, sendo necessárias elevadas doses por via oral para concentrações eficazes no líquido. Apesar do mecanismo de ação não ser conhecido com exatidão, sabe-se que atua por meio da inibição das vias aferentes, ligando-se aos receptores GABA_B acoplados aos canais de cálcio e potássio pertencentes às interações pré e pós-sinápticas. Em nível pré-sináptico, hiperpolariza a membrana bloqueando o influxo de cálcio, reduzindo a liberação de neurotransmissores nas vias espinhais excitatórias e a atividade do neurônio motor alfa. Em nível pós-sináptico, liga-se às terminações aferentes, aumentando a condutância do potássio, hiperpolarizando a membrana e promovendo a inibição pré-sináptica. A transmissão neuromuscular não é afetada por esse fármaco (MÜLLER *et al.*, 2014).

Existem poucos trabalhos que avaliam o efeito de baclofeno quando administrado em via de rápida disseminação sistêmica em ratos. A proposta deste estudo foi avaliar o efeito dessa droga administrada em baixas concentrações, por via intraperitoneal, na redução do consumo de etanol em ratos Wistar, cujos resultados podem, potencialmente, contribuir para o controle da dependência e abstinência alcoólica em humanos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo consistiu em um trabalho experimental, aprovado pelo Comitê de Ética de Animais do Instituto Metropolitano de Ensino Superior, protocolo número 01.001.14.

Animais

Os animais foram da espécie *Rattus norvegicus*/ratos Wistar provenientes do Biotério do Instituto Metropolitano de Ensino Superior com idade em torno de 110 dias, machos e peso aproximado de 200-500g, com média de 340g.

O número de animais adotados no procedimento experimental seguiu de maneira similar ao adotado em estudo publicado na literatura (BOAS *et al.*, 2012).

Os animais foram alojados em gaiolas galvanizadas nas dimensões de 25x13x12cm, sendo um animal/gaiola, mantidos sob condição de temperatura controlada variando de 18-25°C, ciclo claro-escuro de 12 horas e dieta *ad libitum*

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

Descrição geral do experimento

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em seis grupos (1, 2, 3, 4, 5 e 6), sendo cinco deles compostos por cinco animais e um grupo de 15 animais, num total de quarenta (Quadro 1). Antes do início dos experimentos, eles passaram por um período de uma semana de ambientação. Após este período, na fase I do experimento, os animais dos grupos 1, 2, 3 e 4 receberam dieta *Ad libitum* e, por três semanas, foram ofertadas, simultaneamente, três opções diferentes de líquidos contendo, respectivamente, solução hidroalcoólica 10%v/v, solução hidroalcoólica 5%v/v e, por fim, água pura, as quais foram ofertadas diariamente aos animais. Essa fase foi denominada de Exposição.

Quadro 1 - Descrição do procedimento experimental

	Grupos experimentais			Grupos controle		
	1	2	3	4	5 (A, B e C)	6
Fase I Exposição	SHA* 10% e 5% + Água	SHA 10% e 5% + Água	SHA 10% e 5% + Água	SHA 10% e 5% + Água	Água	Água
Fase II Abstinência	Água	Água	Água	Água	Água	Água
Fase III Reexposição	SHA 10% e 5% + Água	SHA 10% e 5% + Água	SHA 10% e 5% + Água	SHA 10% e 5% + Água	Água	Água
Fase IV Baclofeno e Avaliação	Baclofeno 1mg/kg + SHA 10% e 5% + Água	Baclofeno 2mg/kg + SHA 10% e 5% + Água	Baclofeno 3mg/kg + SHA 10% e 5% + Água	SF** 0,9% + SHA 10% e 5% + Água	Baclofeno 1, 2 ou 3 mg/ kg (respec- tivamente) + Água	SF 0,9% + Água

* SHA: Solução hidroalcoólica / ** SF: Solução fisiológica

Ao final de três semanas, na fase II, os animais dos grupos 1, 2, 3 e 4 tiveram a oferta das soluções hidroalcoólicas interrompidas durante uma semana, sendo ofertada apenas água pura. Esta foi a fase de Abstinência. Ao final dessa semana, iniciou-se a fase III, na qual os grupos 1, 2, 3 e 4 sofreram uma reexposição contínua às diferentes concentrações de solução hidroalcoólica e água, idênticas

às praticadas na fase I por um período de uma semana. Tal fase foi denominada de Reexposição.

Durante todo o período experimental, os grupos 5 e 6 receberam dieta *ad libitum* e foram ofertadas três mamadeiras contendo apenas água, sem adição de qualquer outra substância. Foram considerados como grupos controle.

Grupos experimentais

Na fase IV, os animais foram avaliados quanto ao grau de consumo etílico, com o intuito de correlacionar o grau de dependência etílica ao efeito terapêutico esperado da droga baclofeno na abstinência pelo etanol. Por duas semanas subseqüentes, os animais dos grupos 1, 2 e 3 receberam dias alternados de baclofeno e mantiveram a exposição às diferentes concentrações de solução hidro alcoólica (5% e 10% v/v) e água (fase IV). As doses de baclofeno administradas para os grupos 1, 2 e 3 foram nas concentrações de 1, 2 e 3mg/kg, respectivamente, por via intraperitoneal. Essa fase transcorreu por duas semanas.

Grupos controle

GRUPO CONTROLE 4: refere-se aos animais do grupo 4, que sofreram a mesma dinâmica de oferta de água e solução hidro alcoólica do grupo experimental (1, 2 e 3), exceto pelo fato de não receber a droga baclofeno. A fim de controle experimental, foi administrada a esses animais solução fisiológica 0,9% intraperitoneal.

GRUPO CONTROLE 5: refere-se aos animais do grupo 5, aos quais foram ofertadas três mamadeiras de água e administrado baclofeno intraperitoneal nas doses idênticas aos do grupo experimental, sendo que os grupos 5A, 5B e 5C, receberam respectivamente 1, 2 e 3mg/kg.

GRUPO CONTROLE 6: refere-se aos animais do grupo 6, que receberam desde o início do experimento apenas a oferta de água. A este grupo também foi administrada solução salina 0,9% intraperitoneal. O procedimento experimental é descrito no Quadro 1.

Administração de baclofeno

Os animais foram pesados no início do período de ambientação e na última fase do experimento em balança analítica Toledo, modelo 2090 XXIIC Série: 00033009877-GB.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

A dose administrada a cada animal variava de acordo com o peso individual. Para obtenção dessa dose adequada, diluições foram necessárias. O medicamento foi armazenado sob refrigeração até o momento das administrações. O volume máximo de 2 mL por 100g de peso corporal foi respeitado durante a administração das soluções de baclofeno aos animais

Cada animal era manipulado individualmente, respeitando a ordem crescente dos grupos e numérica de cada animal. O medicamento era, então, administrado por via intraperitoneal, nas diferentes concentrações, aos diferentes grupos de animais. O período de administração da droga seguiu conforme descrito anteriormente.

Coleta de dados

Sempre ao final dos intervalos de 48 horas, eram aferidos os volumes residuais, tanto de água quanto das soluções hidroalcoólicas, por meio de proveta de graduação. Da mesma forma, os volumes repostos de água e soluções hidroalcoólicas eram sempre previamente aferidos em proveta antes de serem alocados nas devidas mamadeiras. As provetas eram sempre higienizadas e secas em estufa para minimizar resíduos de secagem.

O valor consumido pelo animal no decorrer de 48 horas foi determinado subtraindo-se o volume residual encontrado nas mamadeiras do volume previamente ofertado (250 mL). O valor obtido era, então, registrado em tabelas de controle confeccionadas individualmente para cada animal, assim como em planilhas do programa Microsoft Office Excel 2007.

Análise estatística

Os dados foram digitados no software Microsoft Excel 2010 e analisados no pacote estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Science*) versão 15.0. Foram realizadas análises descritivas por meio do cálculo de medidas de tendência central (média e mediana) e de variabilidade (desvio-padrão, mínimo e máximo).

Para avaliar se houve diferença no consumo ao longo das fases em cada grupo foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon. Optou-se por utilizar um teste não-paramétrico devido ao caráter assimétrico das variáveis analisadas. Em todas as análises foi considerado um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Na figura 1, evidencia-se a média de consumo diário de solução hidroalcoólica a 5%, em mL por peso em gramas, durante as fases I, III e IV (exposição, reexposição e tratamento com baclofeno, respectivamente) para os grupos 1, 2, 3 e 4.

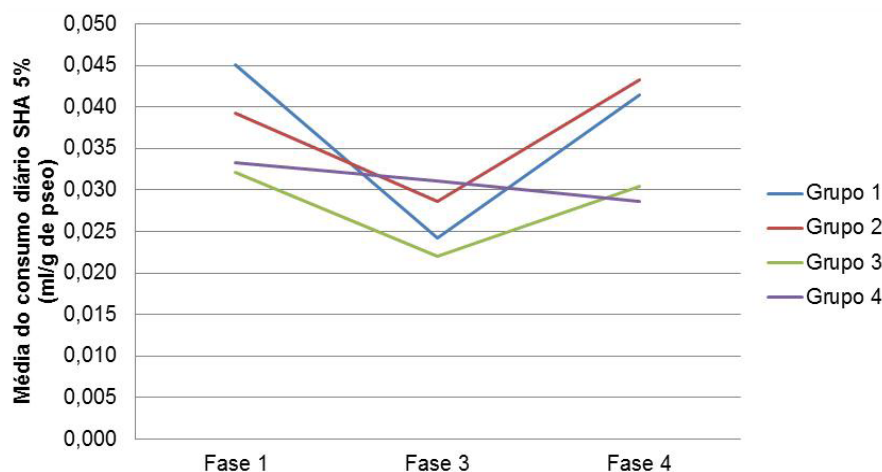


Figura 1 - Consumo médio diário de Solução Hidroalcoólica 5% por g de peso

A comparação múltipla demonstrou que os grupos 1, 2 e 3 apresentaram o mesmo padrão de redução no consumo da solução hidroalcoólica na fase III, porém sem significância estatística ($p > 0,05$). A análise dos grupos entre as fases III e IV evidenciou aumento no consumo entre os grupos 1, 2 e 3, novamente sem significância estatística ($p > 0,05$). O grupo 4 divergiu dos anteriores por apresentar queda linear de consumo entre as fases I e IV, também sem significância estatística ($p > 0,05$).

O consumo diário de solução hidroalcoólica a 5% nos grupos experimentais 1, 2, 3 e 4, ao longo da fase de exposição, ocorreu de forma variável, não sendo identificado um padrão fixo de ingestão hidroalcoólica. No início dessa fase, houve um maior consumo no grupo 1 e um menor no grupo 4, porém observou-se uma inversão desses valores na segunda semana, quando o consumo diário do grupo 4 ultrapassou o dos demais, apresentando maior consumo ao final da fase de exposição. Vale ressaltar que os resultados encontrados, novamente, não apresentaram valor estatisticamente significativo ($p > 0,05$).

A figura 2 exhibe comparação múltipla do consumo de solução hidroalcoólica 10% em mililitro por peso em gramas, durante as fases I, III e IV, nos grupos 1, 2, 3 e 4. O padrão de consumo estatística-

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

mente relevante foi observado no grupo 1 com diferença de média de consumo entre as fases I e III de 19.77 mL/dia ($p = 0,006$). Nesse mesmo grupo houve aumento de consumo médio diário entre as fases III e IV com aumento de 13.62 mL/dia ($p = 0,04$). Ainda comparando as fases, observou-se queda de consumo médio diário entre as fases I e IV de 9.15 mL/dia ($p = 0,032$).

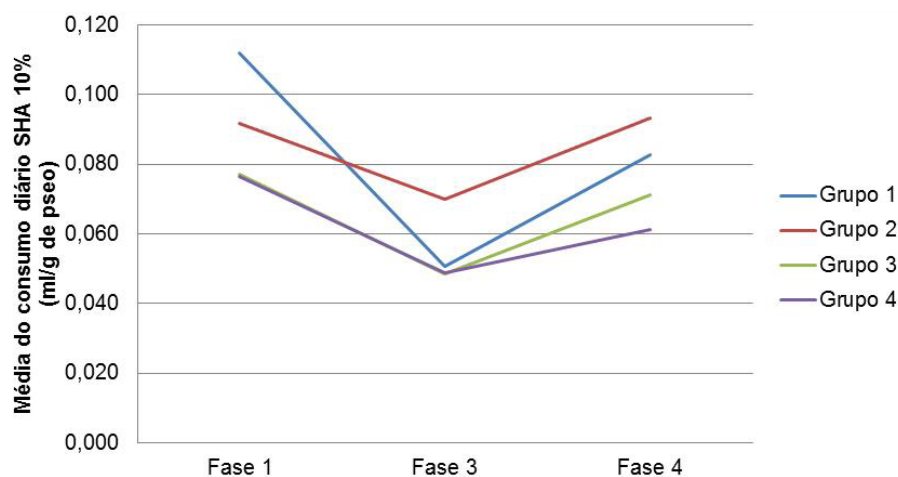


Figura 2 - Consumo médio diário de Solução Hidroalcoólica 10% por g de peso

No grupo 2, observou-se aumento médio de consumo de 6,3 mL/dia ($p=0,027$) entre as fases III e IV, sem significância estatística dentre as outras fases.

O grupo 3 apresentou queda de consumo médio de 9.49 mL/dia ($p=0,038$) entre as fases I e III e aumento de consumo médio de 7.73 mL/dia entre as fases III e IV ($p=0,024$). Não houve diferença estatística entre as fases I e IV.

O grupo 4 divergiu dos anteriores por não apresentar tendências de queda ou aumento de consumo de significância estatística.

Não foi observado viés de divergências de consumo referente ao peso de cada animal.

Na figura 3, demonstra-se o consumo diário de solução hidroalcoólica a 10% dos mesmos grupos descritos anteriormente durante a fase de exposição de 21 dias, sendo cada intervalo de período correspondente a 3 dias. Observa-se que o grupo 1 manteve um maior consumo até o décimo segundo dia, porém no décimo quinto dia foi o grupo com a menor ingestão hidroalcoólica. A partir do décimo oitavo dia, apresentou um incremento de consumo, mantendo-se ao final da fase como o grupo de maior valor de consumo diário. Quanto aos demais grupos, observou-se uma alternância na quantidade de solução ingerida durante todo o período de teste. Em nenhum dos

grupos obteve-se um resultado com significância estatística, sendo o valor de $p > 0,05$.

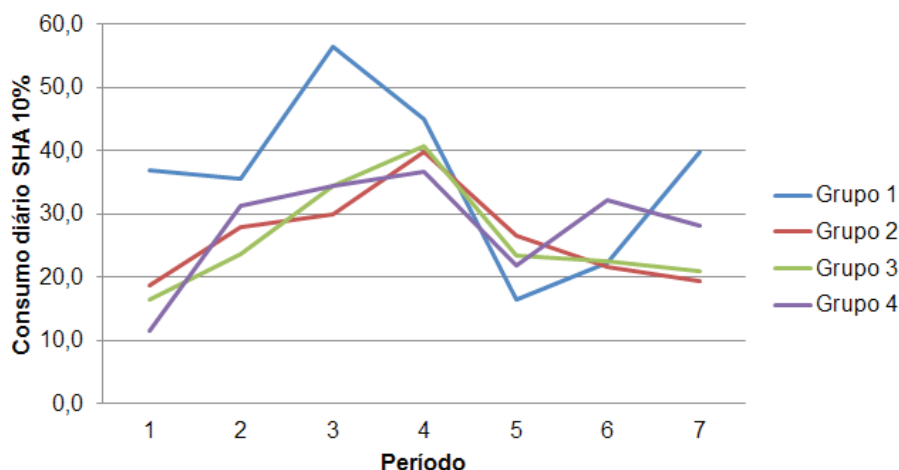


Figura 3 - Consumo médio diário de Solução Hidroalcoólica 10% durante fase de exposição

Em relação às médias do consumo diário de água em mL/g de peso nas fases I, II, III, e IV entre os grupos 1, 2, 3 e 4, de forma geral, observou-se um padrão de incremento de consumo entre as fases I e II e um decréscimo a partir da fase II até a fase IV. Em nenhum dos grupos, entretanto, observou-se relevância estatística no aumento de consumo médio entre as fases I e II. Nos grupos 1, 2 e 3 pode-se observar declínio de consumo estatisticamente significativo somente entre as fases I e IV com valores de $p = 0,01$. O grupo 4 não apresentou significância estatística em qualquer dos intervalos entre as fases estudadas.

Já na figura 4, demonstra-se a média do consumo diário de água relacionando-se mL/g de peso nos grupos 5A, 5B, 5C e 6 durante cada fase do experimento. Vale ressaltar que estes grupos não foram expostos à solução hidroalcoólica em nenhum momento.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

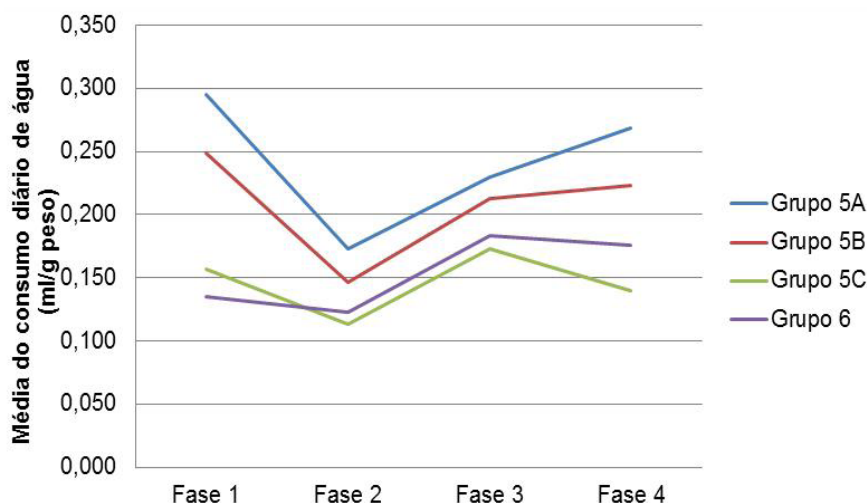


Figura 4 - Consumo médio diário de água por g de peso em grupos controle

Observa-se um decréscimo no consumo de água em todos os grupos ao comparar a fase II com a fase I ($p < 0,05$), sendo essa redução mais discreta no grupo 6 ($p > 0,05$). A partir da fase II, houve um aumento do consumo também em todos os grupos, de forma que no 5A e 5B esse padrão se manteve até o final do teste. Nos grupos 5C e 6, observou-se uma discreta queda no consumo hídrico após a fase III, mantendo-se esse padrão até o final da fase IV.

Observa-se variação estatisticamente significativa entre as fases I e II, e II e IV entre todos os grupos, exceto o grupo 6, cujo único dado significativo foi a alteração evidenciada entre as fases II e III, com $p = 0,001$.

DISCUSSÃO

Levando-se em consideração o objetivo principal deste trabalho, que foi caracterizar um possível efeito do baclofeno no consumo de álcool por ratos expostos a diferentes concentrações de soluções hidroalcoólicas, o grupo com maior padrão de consumo etílico foi o grupo 1, sendo o único a demonstrar redução de consumo após administração da droga, na concentração de 1mg/Kg.

O peso não influenciou de maneira significativa o consumo de álcool, não sendo, um fator determinante de consumo de solução hidroalcoólica 5%. Desprezado esse possível viés estatístico, pode-se avaliar o efeito final do consumo de solução hidroalcoólica 5% pelos animais após o tratamento com baclofeno nas diferentes concentrações. Independentemente de maior ou menor consumo inicial

de álcool pelos animais, em nenhum grupo experimental observou-se impacto considerável da administração do baclofeno, em qualquer concentração, no consumo final de álcool quando comparado ao consumo inicial. Há, ainda, grande divergência na literatura quanto ao real efeito desta droga, especialmente quando utilizada em diferentes espécies de roedores, assim como diferentes concentrações de baclofeno, sendo esse um ponto de especulação quanto à dose correta a ser utilizada e sua variação de acordo com a genética e susceptibilidade de cada espécie em estudo (COLOMBO *et al.*, 2000; BECHTHOLT; CUNNINGHAM, 2005; CZACHOWSKI; LEGG; STANSFIELD, 2006; WALKER; KOOB, 2007; MOORE; BOEHM, 2009).

Com base na susceptibilidade etílica oriunda de questões envolvendo diferenças genéticas, ao analisar os mesmos animais sob as mesmas condições de manipulação e avaliação de dados, pode-se observar que o grupo 1 manteve um padrão inicial de maior consumo de solução hidroalcoólica 10% em relação aos demais. Porém, ao contrário do ocorrido com a solução hidroalcoólica 5%, na qual não houve diferença estatisticamente significativa na redução de consumo após administração da droga, neste grupo de animais houve uma queda de consumo médio de 9,15 mL/dia de solução hidroalcoólica 10% com $p = 0,032$, o que sugere alguma participação da droga nesse resultado, apesar de ser um achado isolado, em apenas um grupo experimental. Tal resultado encontra respaldo novamente ao eliminar o viés estatístico da influência do peso dos animais no consumo. Estudos anteriores demonstraram que animais considerados como consumidores maiores de álcool têm uma tendência a sofrer maior grau de impactação na redução de consumo etílico após utilização da droga baclofeno (JOHNSON, 2010).

Os grupos 1 e 3 demonstraram redução estatisticamente relevante do padrão de consumo da solução hidroalcoólica a 10%, entre as fases de exposição e reexposição após um período de abstinência. Esses resultados contrariam a expectativa de retomada de consumo maior ao da fase de exposição primária em todos os grupos e nas diferentes concentrações de solução hidroalcoólica. Tal fato pode ser explicado por trabalhos anteriores que descreveram ser o etilismo proveniente de desordens heterogêneas em relação a sua etiologia multifatorial e envolver complexas interações entre vários genes e fatores ambientais (MOROZOVA *et al.*, 2012).

Diferentes fatores de risco, tais como traços de personalidade e patologias psiquiátricas relacionadas à impulsividade, estão relacionadas à maior propensão ao etilismo (LEGGIO *et al.*, 2009; LEJUEZ *et al.*, 2010; ARAGUES *et al.*, 2011).

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

Traços de ansiedade comportamental, demonstrados em estudos anteriores, foram correlacionados a maior ingesta alcoólica em ratos, porém ainda com resultados contrastantes na literatura (SPANAGEL *et al.*, 1995; LANGEN; FINK, 2004; BAHÍ, 2013)

Em recente estudo, foi analisado o consumo etílico voluntário e comportamental de ratos Wistar. Efeitos de abstinência foram observados apenas naqueles animais considerados como consumidores etílicos ávidos, assim como comportamento sugestivo de pouca ansiedade após a ingesta alcoólica, provavelmente devido às propriedades ansiolíticas do etanol (MOMENI; ROMAN, 2014). Na presente pesquisa, o comportamento animal não foi avaliado em qualquer momento, mas fica claro, conforme argumentado previamente, uma maior predileção de animais do grupo 1 por consumo etílico assim como um ganho maior de peso comparado a outros grupos. Tal fato pode ser atribuído a uma maior ingesta alimentar, provavelmente devido a um componente de maior estresse ou ansiedade por parte destes animais, o que corrobora o ganho de peso.

Quanto à administração da droga baclofeno, a dose administrada aos animais não seguiu necessariamente uma correspondência com o padrão de consumo etílico, uma vez que o grupo 1, que recebeu a menor dose de baclofeno, foi o que apresentou maior índice de abstinência.

As concentrações de baclofeno foram determinadas de acordo com dados encontrados no estudo de Tanchuck *et al.* (2011). Nesse estudo, a dose de baclofeno 5mg/kg/dose administrada por via intraperitoneal, reduziu o consumo etílico em camundongos, como também a ingesta hídrica e consumo alimentar, além de afetar a capacidade motora desses animais. Decidiu-se por utilizar uma dose mínima de 1mg/kg/dose e uma máxima de 3 mg/kg/dose com o propósito de não afetar a capacidade locomotora dos animais.

Da mesma forma, como evidenciado por Tanchuck *et al.* (2011), observou-se que o baclofeno exerceu alguma influência na ingestão hídrica dos animais. Nos grupos controle, foi observada alteração estatisticamente significativa nos grupos 5C, apresentando uma redução do consumo, enquanto no 5A e 5B observou-se o oposto, com o incremento da ingesta hídrica entre as fases de reexposição e a de administração do medicamento.

Ao avaliar os grupos expostos ao etanol, observou-se um declínio no consumo de água em todos os que receberam as diferentes doses de baclofeno, porém essa redução não teve seu início logo após a administração da droga, e sim após a fase de abstinência. Além disso, não se observou relação entre a dose administrada e a quantidade proporcional de redução, de forma que o grupo com

um declínio mais acentuado não foi aquele que recebeu a maior dose da droga.

Tais alterações contribuem para um possível questionamento quanto ao efeito sedativo do baclofeno, especificamente nos resultados apresentados neste estudo, o que sugere outras justificativas além da sedação. Caso fosse somente esse o fator determinante, além de observar um comportamento seguindo um padrão de redução de consumo de água de acordo com a dose da droga, o que não ocorreu, esperar-se-ia também que a redução de consumo etílico também seguisse essa mesma tendência nos grupos experimentais. Contudo, observou-se que apenas no grupo 1, que recebeu a menor dose da droga, houve queda do consumo etílico, fato este não observado nos grupos que receberam concentrações maiores da droga e que mantiveram o mesmo padrão de ingestão alcoólica.

Vale ressaltar que os grupos que receberam apenas o placebo, tanto o exposto ao etanol e água (grupo 4), quanto ao exposto apenas à água pura (grupo 6), não demonstraram alterações significativas de consumo de água ou de etanol durante todo o experimento. Isso não permite descartar algum efeito que o baclofeno tenha exercido nos demais grupos.

De acordo com pesquisadores, a efetividade do baclofeno em reduzir o consumo alcoólico se manteria após 8 horas, desaparecendo 10 horas após a primeira injeção intraperitoneal da droga, sugerindo que o momento da administração da droga e a mensuração do consumo etílico poderiam ser críticos na avaliação do efeito da droga sobre o etilismo (TANCHUCK *et al.*, 2011). No presente estudo, utilizou-se o período de administração e aferição de consumo de 48 horas para todos os grupos, contrastando os dados relatados por Tanchuck *et al.* (2011), porém corroborados por Boas *et al.* (2012), no qual camundongos foram utilizados como modelo experimental e foi evidenciada efetiva participação do baclofeno na redução de consumo etílico após 24 horas da administração do baclofeno.

A razão pela qual a menor concentração da droga se mostrou exclusivamente efetiva no grupo que teve maior consumo etílico pode encontrar resposta tanto na questão genética individual, quanto no provável mecanismo de ação do baclofeno. Os genes que codificam as subunidades GABA1 e GABA2 são diferentemente expressos em camundongos que demonstram alto padrão de consumo etílico (KALIVAS; VOLKOW, 2005), assim como os genes *GABBR1* e *GABBR2* possuem maior grau de transcrição no córtex pré-frontal, com níveis mais baixos de RNAm, *GABBR2* no hipocampo e níveis maiores de transcrição de *GABBR1* no núcleo estriado (RIBEIRO *et al.*, 2010, 2012).

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

O que ainda permanece incerto é o modo como esses diferentes padrões de transcrição podem influenciar no consumo de etanol. Pode-se inferir, a partir de análises genotípicas, que agonistas GABA são efetivos na redução de ingesta alcoólica quando há equilíbrio entre as subunidades GABA_{B1} e GABA_{B2}. Alguns autores têm ainda afirmado que a própria conformação da subunidade GABA1 e conseqüentemente a relação entre GABA1-GABA2 é necessária para ativação do receptor GABA_B (MORISHITA; KATO; ASANO, 1990).

Fato é que, além da expressão dos genes *GABBR1* e *GABBR2*, e da conformação de seus produtos, há ainda uma íntima relação de diferentes sistemas neuroquímicos, incluindo sistemas gabaérgicos e opioides, que modulam as áreas da recompensa e do prazer estimuladas pelo consumo de etanol (KOOB; LE MOAL, 2005).

A questão relacionada ao consumo de etanol e o grau de impacto positivo que o baclofeno pode gerar no tratamento em humanos foram também observados por Muzyk, Rivelli e Gagliardi (2012). Existem diferentes padrões de resposta ao baclofeno frente a diferentes padrões de etilismo, sendo esse fato inclusive alvo de uma revisão bibliográfica, que propõe avaliar o grau de efetividade do baclofeno em controlar sintomas de abstinência e dependência etílica em indivíduos com diferentes níveis de consumo etílico (MUZYK; RIVELLI; GAGLIARDI, 2012).

Conclusões

Apenas a menor concentração da droga baclofeno na posologia de 1mg/kg/dose demonstrou possível efeito na redução do etilismo no grupo com maior padrão de consumo de solução hidroalcoólica. A princípio, o uso de baclofeno parece reduzir o etilismo apenas em grupos de animais que apresentam maior padrão de consumo etílico prévio à administração da droga. Resta o questionamento se a dose de baclofeno efetiva no tratamento dos efeitos da privação alcoólica seria a de menor concentração de administração, sendo a encontrada no estudo de 1mg/kg/dose.

Os animais, de forma geral, apresentaram um consumo maior de solução hidroalcoólica em maior concentração de etanol. O peso dos animais não foi fator determinante tanto no padrão de consumo etílico quanto na resposta ao baclofeno. A metodologia aplicada mostrou-se viável para o estudo de consumo etílico em ratos Wistar antes e após a administração da droga.

Uma limitação do trabalho deve-se ao fato de não ter sido avaliado o efeito de diferentes concentrações da droga no grupo que demonstrou maior consumo de etanol.

REFERÊNCIAS

ARAGUES, M. et al. Laboratory paradigms of impulsivity and alcohol dependence: a review. **Eur Addict Res.**, Madrid, v. 17, n. 2, p.64-71, 2011.

BAHI, A. Individual differences in elevated plus-maze exploration predicted higher ethanol consumption and preference in outbred mice. **Pharmacol Biochem Behav.**, Nebraska, v. 105, p. 83–8, 2013.

BECHTHOLT, A. J; CUNNINGHAM, C. L. Ethanol-induced conditioned place preference is expressed through a ventral tegmental area dependent mechanism. **Behav Neurosci.**, Washington, v. 119, n.1, p. 213–23, 2005.

BOAS, G. R. V. et al. Gaba_B receptor agonist only reduces ethanol drinking in light-drinking mice. **Pharmacol Biochem Behav**, Phoenix, v. 102, n. 2, p. 233-40, 2012.

COLOMBO, G. et al. Ability of baclofen in reducing alcohol intake and withdrawal severity: I - Preclinical evidence. **Alcohol Clin Exp Res.**, New York, v. 24, n. 1, p. 58–66, 2000.

CZACHOWSKI, C. L.; LEGG, B. H.; STANSFIELD, K. H. Ethanol and sucrose seeking and consumption following repeated administration of the gabab agonist baclofen in rats. **Alcohol Clin Exp Res.**, New York, v. 30, n. 5, p.812-8, 2006.

GHOSE, S. et al. The GABAB receptor as a target for antidepressant drug action. **British J Pharmacol**, London, v. 162, n. 1, p. 1-17, 2011.

HOBBS, W. R.; RALL, T. W.; VERDOORN, T. A. Hipnóticos e sedativos: etanol. In: HARDMAN, J. G. et al.. **Goodman & Gilman As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraaw-Hill Interamericana, 1996. p.361-396.

JOHNSON, B. A. Medication treatment of different types of alcoholism. **Am J Psychiatry**, Washington, v. 167, n. 6, p. 630–9, 2010.

KALIVAS, P. W; VOLKOW, N. D. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. **Am Journal of Psychiatry**, Washington, v. 162, n. 8, p. 1403-1413, 2005.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.

KINJO, A. *et al.* Evolutionary History of the GABA Transporter (GAT) Group Revealed by Marine Invertebrate GAT-1. **PLoS ONE**, San Francisco, v.8, n.12, p. 25-7, 2013.

KOOB, G. F.; LE MOAL, M. Neurobiology of addiction. **Academic Press**, London, 2005.

LANGEN, B.; FINK, H. Anxiety as predictor of alcohol preference in rats? **Progneuro-psychoph.**, Oxford, v. 28, p. 961-8, 2004.

LEGGIO, L. *et al.* Typologies of alcohol dependence. From Jellinek to genetics and beyond. **Neuropsychol Rev.**, New York, v. 19, n. 1, p. 115-129, 2009.

LEJUEZ, C. W. *et al.* Behavioral and biological indicators of impulsivity in the development of alcohol use, problems, and disorders. **Alcohol Clin Exp Res.**, New York, v. 34, n. 8, p. 1334-1345, 2010.

MOMENI, S.; ROMAN, E. Subgroup-dependent effects of voluntary alcohol intake on behavioral profiles in outbred Wistar rats. **Behav Brain Res**, Amsterdam, v. 275, p. 288-296, 2014.

MOORE, E. M.; BOEHM, S. L. Site-specific microinjection of baclofen into the anterior ventral tegmental area reduces binge-like ethanol intake in male C57BL/6J mice. **Behav Neurosc**, Washington, v. 123, n. 3, p. 555, 2009.

MORISHITA, R.; KATO, K.; ASANO, T. GABA B receptors couple to G proteins G_o, G_q and G_{i1} but not to G_{i2}. **FEBS letters**, Amsterdam v. 271, n. 1, p. 231-235, 1990.

MOROZOVA, T. V. *et al.* The genetic basis of alcoholism: multiple phenotypes, many genes, complex networks. **Genome Biol.**, London, v. 13, n. 2, p. 239, 2012.

MÜLLER, C. A. *et al.* Current pharmacological treatment approaches for alcohol dependence. **Expert Opin Pharmacother**, London, v.15, n.4, p 471-81, 2014.

MUZYK, A.J.; RIVELLI, S. K.; GAGLIARDI, J. P. Defining the role of baclofen for the treatment of alcohol dependence. **CNS drugs**, Philadelphia, v. 26, n. 1, p. 69-78, 2012.

RIBEIRO, A. F. *et al.* The *gabbr1* and *gabbr2* genes are involved with addictive behavior: a study in different phenotypes of ethanol consumers. **Alcohol Clin Exp Res**, New York, v. 34, suppl 2 , p. 39a, 2010.

RIBEIRO, A. F. *et al.* A transcriptional study in mice with different ethanol-drinking profiles: possible involvement of the GABA B receptor. **Pharmacol Biochem Behav**, Nova York, v. 102, n. 2, p. 224-232, 2012.

ROBERTO, M; SIGGINGS, G. Nociceptin/orphanin FQ presynaptically decreases GABAergic transmission and blocks the ethanol-induced increase of GABA release in central amygdala. **Proc Natl Acad Sci USA**, Washington, v.103, n.25, p.9715–9720, 2006.

ROOM, R. Healthy is as healthy does: Where will a voluntary code get us on international alcohol control? **Addiction**, London, v. 108, n.3, p.456–457, 2013.

SPANAGEL, R. et al. Anxiety: a potential predictor of vulnerability to the initiation of ethanol self-administration in rats. **Psychopharmacol**, Berlin, v. 122, n. 4, p. 369-373, 1995.

TANCHUCK, M. A. et al. Assessment of GABA-B, metabotropic glutamate, and opioid receptor involvement in an animal model of binge drinking. **Alcohol**, New York, v. 45, n. 1, p. 33-44, 2011.

WALKER, B.M.; KOOB, G. F. The γ -Aminobutyric Acid-B Receptor Agonist Baclofen Attenuates Responding for Ethanol in Ethanol-Dependent Rats. **Alcohol Clin Exp Res.**, New York, v. 31, n. 1, p. 11-18, 2007.

SOUZA, Anderson Proust Gonçalves de *et al.* Participação de receptores GABA B na modulação do consumo etílico em ratos Wistar. **SALUSVITA**, Bauru, v. 35, n. 3, p. 321-338, 2016.