

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA

ALESSANDRO WANDEL CORREA FERNANDES

ACHADOS ELETROENCEFALOGRÁFICOS NA ASSOCIAÇÃO ÁLCOOL-
FLUNITRAZEPAM

BELÉM

2022

ALESSANDRO WANDEL CORREA FERNANDES

ACHADOS ELETROENCEFALOGRÁFICOS NA ASSOCIAÇÃO ÁLCOOL-
BENZODIAZEPÍNICO

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do Pará para a obtenção do grau
de Médico.

Orientador: Prof. Dr. Moises Hamoy

BELÉM

2022

ALESSANDRO WANDEL CORREA FERNANDES

ACHADOS ELETROENCEFALOGRÁFICOS NA ASSOCIAÇÃO ÁLCOOL-
BENZODIAZEPÍNICO

Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Pará para a obtenção do grau de Médico.

Banca examinadora:

Profa. Dr. Moises Hamoy

Orientador

Profa. Dra. Vanessa Joia de Mello

Examinadora – ICB/UFPA

Prof. Dr. Rômulo Augusto Feio Farias

Examinador – ICB/UFPA

Aprovado em: ___/___/_____

Conceito: _____

Arrepiava meu corpo vivenciar esse momento tão esperado e imaginado por todos que me amam. É indescritível a sensação de honra, de orgulho e de gratidão poder chegar até aqui e perceber que todo trabalho se concluiu e que um ciclo se fecha para que novos se abram. Seis longos anos se passaram, o bastante para enfrentar as dificuldades e provações do dia a dia, sorrir apesar delas e finalmente entender que cada uma foi essencial pra construir quem sou hoje e ainda me despertar saudades.

Me sinto preparado para conviver com sangue, feridas e dor, mas também com a vida, a cura e milagres que são dons de Deus. Entendo que ser médico é mais do que uma opção, é uma missão, reside comigo a responsabilidade de cuidar do amor da vida de alguém e isso é incrível e louvável e por isso peço a Deus sabedoria e que me permita deitar a cabeça no travesseiro e que os barulhos da minha consciência sejam silenciosos por ter feito todo o possível. Jamais saberei tudo, mas que a medicina seja o caminho e não o fim.

Einstein disse que podemos ver a vida como se nada fosse um milagre ou como se tudo fosse um milagre. Assim, peço que comecemos a olhar pelas entrelinhas e questionar a naturezas das coisas. Como alguém como eu chegou até aqui? A minha justificativa particular pode ser encontrada no livro de Josué 1:9 "Não fui eu que te ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar".

Agradeço aqueles que tornaram o meu caminho mais fácil e possível. Meus pais, Alexandre e Alessandra por todo apoio, cuidado e dedicação. Ainda, as tias Rosa pela generosidade, Teca pelos conselhos, Rosângela pelo carinho e Roberta pela confiança.

Em memória da minha avó, Olinda, daria qualquer coisa para ouvir você rir mais uma vez e me ver chegar até aqui.

Alessandro Wandel Corrêa Fernandes

AGRADECIMENTOS

Ao professor Moises Hamoy pela orientação, paciência e prontidão em sempre ajudar, mesmo meio aos desafios atuais da rotina profissional.

Ao meu namorado, Erick Castro, que participou ativamente da minha vida durante a construção desse trabalho, sempre foi o refúgio em meio as dificuldades.

Aos meus amigos, Álvaro Brandão, Cesar Aires, Gabriel Greco, Leonardo Rocha e Lucas Melo, a graduação e os últimos seis anos não seriam a mesma coisa sem vocês.

E a todos que de alguma forma estiveram envolvidos na construção desse trabalho.

“Nunca se esqueça de quem você é, porque é certo que o mundo não se lembrará. Faça disso sua força. Assim, não poderá ser nunca sua fraqueza. Arme-se com esta lembrança e ela nunca poderá ser usada para lhe magoar.”

George R. R. Martin

RESUMO

Introdução: O uso de drogas psicotrópicas com fins recreativos ou terapêuticos faz parte da rotina dos seres humanos desde tempos imemoriais. No campo da farmacologia, mais recentemente, a associação entre estes compostos é estudada a fim de estabelecer modelos de estudo para doenças ou mesmo para o simples conhecimento direto dos efeitos da sobredose ou da co-administração destes sobre a fisiologia e seus desdobramentos toxicológicos. O álcool e flunitrazepam, ambos depressores do SNC, possuem ampla capacidade em diminuir a ansiedade, provocar miorelaxamento, perda da inibição social e sedação. Seus efeitos colaterais podem envolver aumento da sonolência diurna, das quedas, do comprometimento cognitivo e até mesmo da *overdose* fatal. **Objetivos:** Com este trabalho, objetiva-se estabelecer grupos de animais (ratos wistar), para os quais foram administradas doses de flunitrazepam e álcool e verificar as alterações eletrocorticográficas pelo uso simultâneo, estabelecendo comparação entre os achados. **Métodos:** A partir do processo de implante dos eletrodos (para avaliação do eletroencefalograma), foram constituídos 8 grupos com 9 ratos, nosso estudo avaliou os efeitos do álcool e do benzodiazepínico isolados e em associação. Os animais foram anestesiados com uma associação de Cloridrato de Xilazina (5mg/kg) e Cloridrato de Cetamina (50mg/kg) por via intraperitoneal. Após o animal apresentar a perda de reflexo interdigital foi fixado no aparelho estereotáxico, para a implantação de eletrodos. Para as análises dos sinais adquiridos uma ferramenta foi construída usando a linguagem de programação Python versão 2.7. As bibliotecas Numpy e Scipy foram usadas para o processamento matemático e a biblioteca Matplotlib para os gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida utilizando a biblioteca PyQt4. **Resultados:** As duas drogas apresentaram perfil semelhante de ação redutora da atividade do SNC. Ainda, foi possível observar que a associação das duas drogas potencializou os efeitos sedativos e os efeitos colaterais redutores da atividade respiratória, com progressão do efeito de acordo com o aumento da dose de benzodiazepínico administrada. **Conclusão:** Por fim, foi possível observar que as alterações nos registros eletroencefalográficos permitiram a conclusão de que os efeitos de ambas as drogas são capazes de alterar o estado de vigília, as funções cognitivas e corticais.

ABSTRACT

Introduction: The use of psychotropic drugs for recreational or therapeutic purposes have been used for most of human history. More recently, the pharmacological association between such compounds is investigated in order to understand the effects of their overdose and co-administration, to establish disease models, and to gain insight into their toxicological and physiological consequences. Alcohol and flunitrazepam, both CNS depressants, have a wide ability to reduce anxiety, cause myorelaxation, loss of social inhibition and sedation. Their side effects can involve increased daytime sleepiness, falls, cognitive impairment and even fatal overdose. **Aims:** Here, our goal was to investigate the electrocorticographic alterations upon administration of alcohol and flunitrazepam in animal models (Wistar rats). **Methods:** For the electrode implantation process (for electrocorticographic evaluation), we established eight groups were of nine rats. We evaluated the effects of alcohol and flunitrazepam alone and in association. The animals were anesthetized with a combination of Xylazine Hydrochloride (5mg/kg) and Ketamine Hydrochloride (50mg/kg) intraperitoneally. Upon the loss of interdigital reflex, we fixed the stereotaxic device for the implantation of electrodes. To analyze the resulting signals, we built a tool implemented in Python version 2.7. Numpy and Scipy libraries were used for mathematical processing and Matplotlib was employed for plotting graphics. The graphical interface was developed using the PyQt4 library. **Results:** Both drugs showed similar effects in reducing CNS activity. Furthermore, we observed that the association of both drugs potentiated the sedative effects and the side effects that reduce respiratory activity, with progression of such effects according to increased doses of flunitrazepam. **Conclusions:** In conclusion, the effects of both drugs are capable of altering waking state, cognitive and cortical functions in mice.

LISTA DE ABREVIATURAS

ADH	Enzima Álcool Desidrogenase
ADLH	Enzima Aldeído Desidrogenase
C ₂ H ₅ OH	Molécula de álcool etílico ou etanol
CEPAE	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
ECoG	Eletrocorticograma
GABA	Ácido Gama Amino Butírico
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
MEOS	Sistema Microssomal de Oxidação do Etanol
PSD	Densidade de Potência Espectral
SOFT	Sociedade de Toxicologistas Forenses
SNC	Sistema Nervoso Central
UFPA	Universidade Federal do Pará
UNODC	Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Fórmula química do benzodiazepínico Flunitraszepam 21
- Figura 2 –A Formação do GABA a partir de glutamato ocorre na presença de uma descarboxilase 22
- Figura 3 – Demonstrativo dos registros obtidos após administração de álcool e flunitrazepam, registros com duração de dois minutos (esquerda), amplificação dos registros (centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita). Registro com traçado eletrocorticográfico (ECoG) controle (A); Registro ECoG obtido após administração de álcool 20% (1mL/100g VO) (B); Traçado ECoG obtido após administração de flunitrazepam 0,1 mg/kg VO (C); Registro ECoG obtido após administração de flunitrazepam 0,2 mg/kg VO (D); Registros ECoG obtidos após administração de 0,3 mg/kg VO (E); Registro ECoG obtido após administração de álcool 20% + Flunitrazepam 0.1mg/kg VO (F); Registro ECoG obtido após administração de álcool 20% + Flunitrazepam 0,2mg/kg VO (G); Registro ECoG obtido após administração de álcool 20% + Flunitrazepam 0,3mg/kg VO (H) 31
- Figura 4 – Gráfico demonstrando as médias de potências dos registros da atividade captado pelos eletrodos para os grupos (A), Avaliação da potência da atividade nas oscilações em delta (B); Análise das potências das oscilações em theta (C); Análise das potências dos grupos nas oscilações em Alfa (D); Análise das médias de potências nas oscilações em Beta (E) e Análise das potências nas oscilações em gamma (F). Após ANOVA e teste de Turkey, (*) P<0,01; (**)P<0,001; (***) P<0,0001. 32

Figura 5 – Demonstrativo dos registros eletromiográficos feitos no decimo músculo intercostal do rato. Grupo controle (A), grupo álcool (B), grupo flunitrazepam 0,1 mg/kg (C), grupo flunitrazepam 0,2 mg/kg (D), Grupo flunitrazepam 0,3mg/kg (E), álcool flunitrazepam 0,1mg/kg (F), álcool flunitrazepam 0,2 mg/kg (G) e álcool flunitrazepam 0,3 mg/kg (H). Cada registro com duração de 10 segundos. 35

Figura 6 –Gráfico demonstrando as médias de frequência respiratória durante os tratamentos (A); gráfico demonstrando as médias de potência das contrações do músculo intercostal dos animais submetido ao tratamento (B). Após ANOVA e teste de Turkey, (***) $P < 0.0001$. 36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. PROBLEMA	14
1.2. HIPÓTESES	15
1.3. OBJETIVOS.....	15
1.4. JUSTIFICATIVA	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1. ÁLCOOL	16
2.2. AÇÕES DO ÁLCOOL SOBRE O ORGANISMO	20
2.3. FLUNITRAZEPAM E SUAS AÇÕES SOBRE O ORGANISMO	21
2.4. A ASSOCIAÇÃO E SEUS EFEITOS ADVERSOS	23
2.5. TOXICIDADE E FARMACOCINÉTICA	24
2.6. O ELETROENCEFALOGRAMA	25
3. METODOLOGIA	25
3.1. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1.1. Tipo de pesquisa e seleção da amostra.....	25
3.1.2. Experimento.....	26
3.1.3. Drogas.....	26
3.1.4. Cirurgia para implante de eletrodos.....	27
3.1.5. Eutanásia dos animais.....	28
3.2. ANÁLISE E REPRESENTAÇÃO DOS DADOS E REGISTROS	28
3.2.1. Análise de registro.....	28
3.2.2. Análise de dados	28
3.3. CONFORMAÇÕES ÉTICAS	29

4. RESULTADOS	30
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXO 1 – PARECER CIRCUNSTACIADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	45

1. INTRODUÇÃO

Interação medicamentosa corresponde a uma alteração nos efeitos de um fármaco, os quais podem ser alterados pela presença de outro fármaco, alimentos, bebidas, fumos ou agentes ambientais. Eles agem livremente ou interagindo entre si, podendo levar a um aumento ou diminuição da eficácia terapêutica ou a reações adversas com diferentes graus de gravidade (HOEFLER, 2008).

As interações de natureza álcool-medimento podem ser de vários tipos, de modo que, mesmo que essa ingestão seja de pequena ou grande quantidade ela poderá inibir ou induzir o mecanismo de ação de alguns fármacos podendo gerar efeitos adversos (GOTARDELO et al. 2015).

De acordo com Brunton, Lazo e Parker (2010, 2012), o álcool etílico, cuja fórmula é C_2H_5OH é um líquido encontrado em bebidas alcólicas. Sua natureza é depressora do sistema nervoso central e difere da maioria dos outros depressores, porque é relativamente disponível para os adultos, uma vez que é legal e aceito nas sociedades. Ele ainda é capaz de mudar o equilíbrio entre as atuações excitatórias e inibitórias do cérebro, resultando em desinibição, ataxia e sedação após seu uso.

O etanol é usado como antisséptico (remove inúmeros microrganismos encontrados na pele), desinfetante e condutor para alguns fármacos. Também está contido em alguns elixires em altas concentrações, cuja dose para adultos pode produzir níveis séricos similares aos alcançados com a ingestão de um drinque de bebida alcoólica. A representação social do álcool, na atualidade, está mais ligada ao uso não-médico do que ao entendimento de que é um fármaco, capaz de interagir com outros medicamentos (WANNMACHER, 2007).

O flunitrazepam é um dos fármacos pertencentes a classe dos benzodiazepínicos, classe cuja fórmula possui um anel benzênico fundido com anel heterociclo 1,4-diazepina. Sintetizado na década de 70, foi comercializado pelo nome Rohypnol e era principalmente utilizado para sedação profunda de pacientes internados.

Atualmente, devido aos seus potenciais depressores do sistema nervoso central e efeito na memória curta, o flunitrazepam foi grandemente mencionada como uma Droga Facilitadora de Crime (DFC). Popularmente conhecida como “Boa noite, Cinderela” no

Brasil, a droga é misturada a diversos tipos de bebidas alcoólicas com a intenção de induzir ao sono e perda de memória facilitando crimes de roubo, furto e abusos sexuais. Segundo relatos, existem duas hipóteses sobre a origem do termo. A primeira seria que o nome “Boa Noite Cinderela” é dado como referência a um programa de televisão brasileira no qual o apresentador premiava uma participante com uma noite de princesa. A outra hipótese refere-se à personagem Cinderela, princesa de histórias infantis que participou de um grande baile, referindo-se aos locais preferenciais da prática do golpe, como bares e casas noturnas, em que ela perde seu sapato de cristal, como referência à perda do controle pela vítima (TAKITANE et al., 2017).

Essa classe de medicamentos é depressora do SNC e são usadas nesses crimes devido seus efeitos colaterais, como sedação, sonolência, tontura, desorientação, falta de coordenação, perda de consciência, comprometimento da memória e amnésia anterógrada, os quais acentuam-se quando associados ao etanol (FIORENTIN; LOGAN, 2018). Diferentemente da amnésia retrógrada, em que o indivíduo recorda dos fatos ocorridos depois do trauma sofrido, esquecendo dos fatos passados; na amnésia anterógrada, o indivíduo lembra dos fatos ocorridos a longo prazo, porém não dos acontecimentos recentes, é também conhecida como "apagão" ou incapacidade de criar novas memórias; ou seja, a pessoa perde a memória, semelhante aos apagões alcoólicos. Em função desses efeitos, torna-se difícil a obtenção de pistas sobre o ocorrido com as vítimas, sendo inicialmente confundido com embriaguez (ANGLIN; SPEARS; HUTSON, 1997; HINDMARCH; BRINKMANN, 1999).

Para este trabalho, tendo em vista um crescimento no uso de medicações de efeitos neurolépticos, tais como os benzodiazepínicos, foi feita a opção por investigar, através de registros eletroencefalográficos de modelos animais, as repercussões da interação do flunitrazepam com o álcool.

1.1. PROBLEMA

Doses elevadas de drogas depressoras do sistema nervoso central como o álcool e os benzodiazepínicos, interagindo no organismo, podem provocar acumulações no sistema nervoso central, induzindo estados inibitórios que podem levar ao coma. A associação é cada vez mais comum, principalmente em virtude do crescimento

epidemiológico das doenças psiquiátricas onde o seu uso é contínuo além de seu uso comum na tentativa de crimes de várias ordens utilizando de seus efeitos colaterais para realiza-los. Portanto, há necessidade de se estudar mais este tema e o que ele envolve, desde os mecanismos de acumulação no organismo até os registros eletroencefalográficos de forças cerebrais e os neurotransmissores que possam estar envolvidos.

1.2. HIPÓTESES

- Ocorrem alterações no sistema nervoso central após uso concomitante de álcool e flunitrazepam em doses altas.
- Em doses terapêuticas de flunitrazepam, o uso concomitante de álcool provoca alterações no sistema nervoso central.

1.3. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Verificar as alterações eletroencefalográficas pelo uso de álcool e flunitrazepam simultaneamente, estabelecendo comparação entre os achados.

Objetivos específicos:

Descrever as alterações eletrocorticográficas pelo uso isolado e simultâneo das substâncias para aquisição da potenciais os registros.

Avaliar as oscilações cerebrais nas bandas Delta (1-4 Hz), Theta (4-8 Hz), Alfa (8-13 Hz), beta (13-28 Hz) e Gama (28-40 Hz) após administração das drogas.

1.4. JUSTIFICATIVA

O Flunitrazepam representa um medicamento pouco utilizado para seus efeitos terapêuticos, mas aplicados a situações diferentes de acordo com a necessidade, seja na reversão do estado de mal epilético ou no controle de surtos ou crises agudas de doenças neuropsiquiátricas.

Segundo as guias de agressões sexuais facilitadas por drogas, da Sociedade de Toxicologistas Forenses (SOFT, 2009), e do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes (UNODC, 2011), existem mais de 100 drogas facilitadoras de crime, dessas, destacando-se no cenário nacional, está o flunitrazepam, diversas vezes utilizada para aplicar golpes podendo causar sonolência, perda de memória e até mesmo o estado de coma.

O álcool é uma droga lícita cujo acesso é livre para maiores de 18 anos na legislação brasileira. Tendo em vista o aumento do consumo de álcool no Brasil, principalmente entre os jovens (GARCIA; FREITAS, 2015), deve-se salientar as características comuns a diversos pacientes usuários dessa medicação e como ela pode interagir com o álcool além de ser de fundamental importância para a prática clínica não somente de psiquiatras, mas de especialidades que vão desde os médicos de família e comunidade até os intensivistas que, em último caso, recebem pacientes agudamente intoxicados sob o risco de coma.

Este trabalho, portanto, se justifica na necessidade de análises sobre a toxicidade da associação, a fim de melhor entender os mecanismos envolvidos, descrever achados eletroencefalográficos e sugerir previsões e controle sobre os casos nos quais houver piora de doenças de base do paciente de forma secundária ao uso destes remédios junto ao álcool.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. ÁLCOOL

O álcool é um depressor do sistema nervoso central e age diretamente causando efeitos adversos em vários órgãos, tais como fígado, rins, coração, vasos e parede do estômago. As intensidades dos efeitos variam levando em consideração as características singulares e a intensidade do uso. Um indivíduo que ingere bebida alcoólica com frequência não apresentara efeitos adversos diretos com a mesma intensidade comparando a um indivíduo sem o mesmo hábito considerando a mesma quantidade ingerida. (CISA, 2018).

A absorção do álcool acontece principalmente no intestino delgado, por difusão

passiva e, em menores quantidades, no estômago e no cólon. Sua eliminação acontece na urina (0,3%), pulmões (0,7%) e suor (0,1%) (HOLFORD, 1987). Para estimar com maior precisão a concentração de etanol que chega a corrente sanguínea, ou seja, sua farmacocinética, faz-se necessário considerar alguns fatores. Entre eles estão: a quantidade e o teor alcoólico da bebida consumida em um determinado período de tempo, a massa corporal, o polimorfismo genético geralmente diferente para etnias distintas e a quantidade de alimento presente no estômago (RAMCHANDANI ET AL 2001).

O efeito do álcool varia de acordo com cada órgão. Quando o etanol é transportado pela corrente sanguínea até o cérebro, ele estimula os neurônios a liberarem uma quantidade extra de serotonina, neurotransmissor regularizador do prazer, do humor e da ansiedade explicando o efeito de desinibição e euforia. No estômago, ocorre a irritação da mucosa gástrica, dificultando a digestão e aumentando a produção de ácido gástrico mecanismo responsável pela sensação de enjoo (VASCONCELOS, 2018).

O fígado, entretanto, é o órgão mais suscetível aos efeitos tóxico exercidos pelo consumo exagerado de bebidas alcoólicas e é responsável por 90% da metabolização do etanol (LIEBER, 1980). No metabolismo hepático do etanol, atual duas rotas enzimáticas acessórias e uma principal que são encontradas em compartimentos celulares distintos. Primeiramente, a rota principal é exercida pela enzima álcool desidrogenase (ADH) que pode ser encontrada, principalmente, no citoplasma de células hepáticas e que produz o acetaldeído como substrato. O acetaldeído é posteriormente transformado em acetato pela enzima Aldeído Desidrogenase (ADLH). As outras duas rotas são compostas pelo sistema microsomal de oxidação do etanol (MEOS) encontrado no retículo endoplasmático e pela ação da Catalase, encontrada nos peroxissomos. O produto de todas as três rotas é o acetaldeído (ARTEEL ET AL, 2003).

A ADH é achada de múltiplas formas no organismo humano, são moléculas diméricas contendo zinco em sua estrutura. Até o momento, foram identificados sete genes e subunidades responsáveis pela ADH agrupados em cinco classes baseadas na sequência de aminoácidos, nas propriedades catalíticas e no tipo de tecido em que estão expressas. A última característica está intimamente ligada ao efeito do etanol em células e tecidos específicos, pois o ADH se expressa também no estômago, intestino,

musculatura esquelética e tecido cerebral. A consequente formação de acetaldeído e a expressão de ADH em diferentes tecidos humanos demonstram efeitos adversos deste metabolito como, por exemplo, no cérebro causando efeito estimulante, hipnótico e sedativo (HUNT ET AL, 1996).

A ALDH possui duas subclasses (ALDH1 e ALDH2) que participam na oxidação do acetaldeído. A ALDH1 é encontrada no citoplasma e está distribuída nos diferentes tipos de tecidos humanos incluindo o cerebral. A ALDH2 situa-se na mitocôndria e está amplamente presente no fígado e estômago. Variações genéticas em relação a esta enzima indicam sensibilidades diferentes aos efeitos nocivos do etanol em etnias (RAMANCHADANI ET AL., 2001).

Existe, portanto, um amplo espectro de variações fisiológicas entre o ponto inicial (da sensação de relaxamento, aumento do fluxo urinário e vasodilatação) até a depressão do sistema nervoso e a indução do coma alcoólico. Essas variações ainda podem se relacionar com outras condições patológicas prévias e a ingestão de outras substâncias, provocando efeitos adversos ainda mais complexos.

Segundo McLellan e colaboradores (2000), o abuso de drogas (incluindo o álcool) deve ser interpretado dentro do contexto das doenças mentais crônicas e as drogas, em geral, devem ser entendidas dentro de três realidades determinantes, sendo elas:

- Relacionadas à substância – disponibilidade, custo, pureza/potência, tempo de efeito e via de administração;
- Relacionadas ao usuário – “hereditariedade”, tolerância à substância, expectativas e experiências anteriores, capacidade de vivenciar a intoxicação como prazerosa, sintomas psiquiátricos, autorresponsabilidade e propensão a comportamento de risco;
- Relacionadas ao ambiente - contexto social, atitudes da comunidade, disponibilidade de outros fatores prazerosos ou recreativos, oportunidades educacionais ou profissionais e estímulo condicionado.

Obviamente, nem todos os níveis de consumo de drogas acarretam os mesmos efeitos psicossociais. Portanto, a dependência deve ser relacionada de acordo com critérios específicos para que se acompanhe o usuário para fins de aconselhamento,

redução de danos e controle dos comportamentos de risco.

O questionário “CAGE” é uma ferramenta utilizada em vários países e cuja criação não é recente. Por ser um questionário rápido, tem sido bastante útil para a avaliação do uso/abuso de álcool, seja em uso ambulatorial ou nas emergências (MANSUR, 1985).

Ele é composto de quatro perguntas:

- Você já pensou em largar a bebida?
- Ficou aborrecido quando outras pessoas criticaram o seu hábito de beber?
- Se sentiu mal ou culpado pelo fato de beber?
- Bebeu pela manhã para ficar mais calmo ou se livrar de uma ressaca (abrir os olhos?).

Duas respostas positivas, dentro dessas quatro perguntas, já são um forte indicativo de abuso de álcool.

Existem, ainda, outras classificações, que vão mais a fundo na análise comportamental do usuário. Apanhados de várias literaturas feitos por ALMEIDA (2011 apud APA, 2000; GUNZERATH et al, 2004; LARANJEIRA et al, 2007; MSC, 2007; WHO, 2006) apontam para quatro níveis de adicção, sendo estes: o consumo moderado (ou de baixo risco); o *binge drinking* e o beber pesado episódico (BPE); o uso nocivo/abuso; e a dependência alcoólica.

O consumo moderado, segundo a OMS, é um padrão inespecífico, mas que é marcado pelo baixo risco à saúde do usuário. Já o beber pesado episódico, ou *binge drinking*, envolve um consumo não necessariamente nocivo, mas de risco potencial para a saúde física e mental em breve. Por fim, o uso nocivo, é aquele em que há, comprovadamente, danos à físicos e mentais.

No entendimento da organização mundial de saúde (2006), a dependência é um conjunto comportamental, cognitivo e fisiológico nocivo que vem do consumo repetitivo de álcool, envolvendo dificuldades de controlar o consumo, uso persistente e inconsequente, inversão de prioridades em relação às atividades e obrigações, aumento

da tolerância pela droga e, em estágios mais críticos, a abstinência física (OMS, 2006).¹

2.2. AÇÕES DO ÁLCOOL SOBRE O ORGANISMO

Sobre efeitos observáveis do uso de álcool, o autor Marc A. Schuckit descreve, no capítulo “etanol e metanol” do livro “as bases farmacológicas da terapêutica de Goodman&Gilman” (2012)²:

Embora as pessoas geralmente vejam as bebidas alcoólicas como estimulantes, o etanol é basicamente um depressor do sistema nervoso central. Os sinais específicos de intoxicação variam de afeto expansivo e vivaz a oscilações descontroladas do humor e a explosões emocionais que podem ter componentes violentos. Nos casos de intoxicação mais grave, as funções do SNC geralmente são deprimidas e, por fim, instala-se uma condição semelhante à anestesia geral.

Estudos e investigações epidemiológicas sobre o uso de álcool em pacientes jovens (público onde o consumo mantém um ritmo de crescimento importante) reforçam que o consumo aumentado na adolescência tem relações com distúrbios cognitivos, diminuição da neuroplasticidade, perda de neurônios colinérgicos e serotoninérgicos, alterações de sinapses, desinibição social inadequada e até mesmo fobias sociais (CREWS et al., 2016)³. Regiões do sistema límbico, em especial, são afetadas pelo uso crônico de álcool de forma tal que o paciente estabelece uma difícil relação de dependência com a droga, além de uma perda de estruturas cerebrais adjacentes e alterações de membrana celular e na plasticidade neuronal. Drogas relacionadas com o neurotransmissor Glutamato e seus receptores vêm sendo estudadas como alternativa

¹ WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. International Classification of Diseases (CID). 10th ed. Geneva, 2006.

² SCHUCKIT, Marc A., **Etanol e metanol**. In: Laurence L. Brunton, Bruce A. Chabner, Björn C. Knollmann. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman&Gilman. 12ª Edição. Nova York, 2011. McGrawhill. Capítulo 23, Página 632.

³ CREWS, Fulton T. et al. Adolescent alcohol exposure persistently impacts adult neurobiology and behavior. *Pharmacological reviews*, v. 68, n. 4, p. 1074-1109, 2016.

para auxílio no controle das consequências da dependência química do álcool (JOFFE et al., 2018).⁴

Por conta de seus efeitos nocivos e entorpecentes sobre o sistema nervoso central, o álcool é comumente utilizado como droga facilitadora do suicídio (LOUREIRO; ARAÚJO, 2018)⁵

2.3.FLUNITRAZEPAM E SUAS AÇÕES SOBRE O ORGANISMO

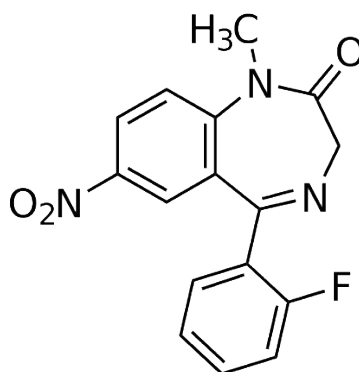


Figura 1 - Fórmula química do benzodiazepínico Flunitrazepam.

Disponível em Wikipédia.

O Flunitrazepam é descrito como uma droga agonista alostérico para os receptores do ácido gama amino butírico (GABA). Na neurofisiologia, o GABA é um importante inibidor neurossináptico que age sobre os canais de cloro das células neuronais, provocando uma hiperpolarização da membrana. Sua ação é antagonizada por outros neurotransmissores. Em destaque, o glutamato é tido como um dos responsáveis principais pelo estado de mal epilético. A nível de sistema nervoso central, existe conversão entre estes dois neurotransmissores, de acordo com a necessidade do controle

⁴ JOFFE, Max E. et al. Metabotropic glutamate receptors in alcohol use disorder: physiology, plasticity, and promising pharmacotherapies. **ACS chemical neuroscience**, v. 9, n. 9, p. 2188-2204, 2018.

⁵ LOUREIRO, Murilo Costa; ARAUJO, Laís Moreira Borges. ÁLCOOL E COMPORTAMENTO SUICIDA. **Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, v. 22, n. 1, 2018.

fino das vias de sinalização celular interneuronal (AMATO et al., 2010)⁶.

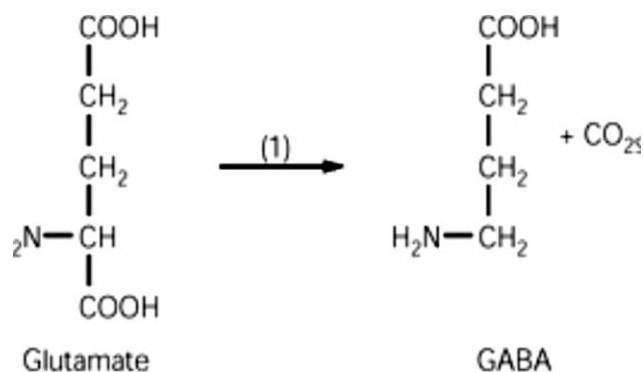


Figura 2 - A Formação do GABA a partir de glutamato ocorre na presença de uma descarboxilase (1). Imagem disponível em: KANDEL, Eric; SCHWARTZ, James; JESSEL, Thomas. Principles of neural science. Quarta edição. Cap.15. Nova York, 2000. McGraw-Hill inCompanies,Inc.

Ao agir sobre receptores GABA, provocando a hiperpolarização pela entrada excessiva de íons cloro, existe a possibilidade de regulação da eficiência das sinapses e, portanto, alteração da capacidade de resposta do indivíduo por efeito sedativo. Dessa forma, o medicamento pode ser usado, por exemplo, para conter quadros convulsivos ou induzir relaxamento da musculatura esquelética (SCHUCKIT, 2011).⁷

Ao entrar no organismo, o Flunitrazepam difunde-se de uma maneira tal que, em virtude da sua solubilidade em lipídeos ser elevada, é possível atravessar as células que formam a barreira hematoencefálica e agir sobre os neurônios GABAérgicos (neurônios que secretam GABA) e assim verificamos os seus efeitos sedativos. Com o tempo, o medicamento é processado no fígado até que possa ser excretado (AMATO et al., 2010)⁸.

⁶ AMATO, Laura et al. Benzodiazepines for alcohol withdrawal. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 3, 2010.

⁷ Marc A. Schuckit, **Etanol e metanol**. In: Laurence L. Brunton, Bruce A. Chabner, Björn C. Knollmann. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman&Gilman. 12ª Edição. Nova York, 2011. Mcgrawhill. Capítulo 23, Página 632.

⁸ AMATO, Laura et al. Benzodiazepines for alcohol withdrawal. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 3, 2010.

Apesar de que o uso abusivo de benzodiazepínicos esteja mais comumente relacionado a fármacos como o clonazepam (Rivotril®)⁹, os mecanismos de ação comuns permitem que, a nível laboratorial, conclusões sejam feitas a partir do entendimento da farmacodinâmica destas drogas (FRAUGER et al., 2006).

Os efeitos esperados envolvem miorelaxamento, perda de ansiedade, perda de medo, sonolência, ação anti-convulsiva, aumento de fome e estado de sedação pré-anestésica. Em casos específicos, pode apresentar efeito teratogênico e tem seu uso restrito se o paciente apresentar hematopatias graves, porfirias, neonatos, lactentes menores de seis meses e outras condições específicas. (AMATO et al., 2010)¹⁰.

A droga antagonista para esse medicamento é o Flumazenil, que pode ser usado para prevenir uma possível reação prejudicial do flunitrazepam.

2.4. ASSOCIAÇÃO E SEUS EFEITOS ADVERSOS

Ainda que a combinação de álcool e benzodiazepínicos esteja associada a overdoses, suicídios, acidentes de trânsito ou outras causas de morte, não são produzidos tantos dados acerca da prevalência de uso abusivo concomitante das substâncias (CHAN, 1984).¹¹ É importante ressaltar que certos modelos de tratamento para a abstinência do álcool envolvem o uso de benzodiazepínicos, portanto existe um grupo potencialmente exposto ao risco de experimentar sensações, de forma voluntária ou não, da mistura destes dois agentes neurolépticos, bem como é maior o risco de dependência das duas substâncias nessa ocasião (AMATO et al., 2010)¹⁰.

É importante, também, ressaltar relatos de efeitos de tolerância cruzada em relação a ambas as substâncias (TABAKOFF; CORNELL; HOFFMAN, 1986)¹², possivelmente

⁹ FRAUGER, Elisabeth et al. Misuse of clonazepam (Rivotril): recent trends. *Therapie*, v. 61, n. 1, p. 49-55, 2006.

¹⁰ AMATO, Laura et al. Benzodiazepines for alcohol withdrawal. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 3, 2010.

¹¹ CHAN, Arthur WK. Effects of combined alcohol and benzodiazepine: a review. *Drug and alcohol dependence*, v. 13, n. 4, p. 315-341, 1984.

¹² TABAKOFF, Boris; CORNELL, Neal; HOFFMAN, Paula L. Alcohol tolerance. *Annals of emergency medicine*, v. 15, n. 9, p. 1005-1012, 1986.

associados a uma expressão aumentada de receptores GABA (TRAN et al., 1981).¹³

2.5. TOXICIDADE E FARMACOCINÉTICA

É de comum entre os benzodiazepínicos o aumento da ação do neurotransmissor inibidor (GABA) além de inibir outros sistemas neuronais por mecanismos pouco conhecidos. A toxicidade destes fármacos e do flunitrazepam é a depressão generalizada de reflexos espinais e do sistema ativador reticular, em casos mais graves pode levar ao coma e a parada respiratória. A toxicidade é observada em doses muito altas em relação a dose terapêutica preconizada para o benzodiazepínico e principalmente na associação de dois depressores do SNC, como flunitrazepam com outras benzodiazepinas ou álcool, barbitúricos ou opioides (OLSON, 2014).

Para Olson, 2014, os sintomas da toxicidade podem ser divididos em leves e graves:

Intoxicação leve:

- Sonolência;
- Hipotonia;
- Ataxia;
- Disartria;
- Confusão mental

Intoxicação grave:

- Depressão respiratória;
- Coma;
- Hipotermia;
- Hipotensão;
- Bradicardia;

¹³ TRAN, Vinh T. et al. GABA receptors are increased in brains of alcoholics. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, v. 9, n. 3, p. 289-292, 1981.

2.6.ELETROCORTICOGRAMA

A eletrocorticografia é o registro do potencial elétrico feito por meio de eletrodos diretamente ligados sobre o córtex cerebral, primariamente descrita por Berger em pacientes com deformidades no crânio na década de 30 do século passado. O primeiro uso em cirurgias foi na ressecção de tumores corticais após a observação que estes modificavam os padrões elétricos por lesões das regiões adjacentes (HOLMES, 2008).

O eletrocorticograma é uma forma de monitoramento da atividade elétrica cerebral, em que os impulsos se traduzem, por meio do aparelho, em padrões de onda que podem ajudar a encontrar e descrever alterações desse funcionamento, levando a interpretações do estímulo gerado, sua localização e os mecanismos envolvidos (GOMES, 2015). A partir de eletrodos afixados em vários pontos específicos do córtex cerebral, por meio de cirurgia, é possível mapear padrões de onda relacionados ao estado de vigília, ao sono, à agitação motora, ao repouso e até mesmo determinar a localização de grupos neuronais que compõem focos convulsivos, caso a convulsão ainda não seja generalizada entre várias áreas do encéfalo (GOMES, 2015).

Do outro lado da clínica, uma inibição do sistema nervoso central pode levar a uma série de sensações alteradas. Normalmente, elas estão ligadas ao sono, à hipoestesia, à anestesia e ao funcionamento anormal de pontos que controlam o estado de vigília, tônus muscular, reações motoras voluntárias e involuntárias dentre outras funções. Mesmo com a aparente “redução” das atividades do indivíduo, seu cérebro (desde que não esteja comprometido por dosagens altas de drogas ou alguma condição biológica prévia) pode emitir padrões de onda identificáveis pelo eletrocorticograma (GOMES, 2015).

3. METODOLOGIA

3.1.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1. Tipo de pesquisa e seleção da amostra

A pesquisa do trabalho “achados eletroencefalográficos na associação álcool-flunitrazepam” de caráter experimental, onde foram analisados os efeitos eletroencefalográficos resultantes de uma intoxicação pela classe do medicamento em

questão.

O estudo foi realizado no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais, que pertence ao ICB (Instituto de Ciências Biológicas) da UFPA (Universidade Federal do Pará), situado na cidade de Belém do Pará (Bairro do Guamá).

A seleção da amostra teve como base a utilização de 72 ratos (*Rattus norvegicus*) pertencentes à linhagem *Wistar*, com idade média de 90 a 120 dias, pesando de 200 a 300g, provenientes do Biotério da UFPA. O Ambiente o qual os animais foram mantidos tinha uma temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade adequada, em torno de $55 \pm 10\%$ umidade relativa do ar, luminosidade artificial de um foto-período de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando-se o período de luz das 6:00 às 18:00 horas e ruído controlados, acondicionados em gaiolas plásticas numa sala com água e ração oferecidos *ad libitum* durante todo o estudo, e com a limpeza das gaiolas sendo realizada duas vezes por semana.

3.1.2. Experimento

A partir do processo de implante dos eletrodos (para avaliação de electrocorticograma), foram constituídos 8 grupos com 9 ratos: Grupo 1 – Controle; Grupo 2 – Álcool: os animais receberam solução de álcool na concentração de 20% na dose de 1 ml/100g de peso do animal. Grupo 3 – Receberam flunitrazepam na dose de 0,1 mg/kg por via oral; Grupo 4 – Receberam flunitrazepam na dose de 0,2 mg/kg VO; Grupo 5 – Receberam flunitrazepam na dose de 0,3 mg/kg; Grupo – 6: Receberam dose associada de álcool 20% 1ml/100g e Flunitrazepam 0,1 mg/kg VO; Grupo – 7: Receberam dose associada de álcool 20% 1ml/100g e Flunitrazepam 0,2 mg/kg VO; Grupo 8 – Receberam dose associada de álcool 20% 1ml/100g e Flunitrazepam 0,3 mg/kg VO. Foram avaliados a contração dos músculos intercostais (com inserção dos eletrodos no decimo e decimo primeiro espaços intercostais) através de eletromiogramas para avaliar a frequência respiratória. Os registros iniciaram 30 minutos após a administração das drogas e tiveram duração de 120 segundos.

3.1.3. Drogas

Para realização do experimento foram utilizados:

- a) solução hidroalcoólica a 20%;
- b) Flunitrazepam na dose de 1mg comprimido;
- c) Cloridrato de Quetamina na dose de 50mg/ml;
- d) Xilazina na dose de 20 mg/ml;

A droga **a** é o álcool etílico, que representa uma das substâncias para a associação da qual caracterizamos as alterações eletroencefalográficas e respiratórias. A droga **b** é uma droga da classe dos benzodiazepínicos, segunda droga utilizada na intoxicação aguda dos animais nas doses de 0,1, 0,2 e 0,3 mg/kg via oral.

O item **c** e **d** foram utilizadas por via intraperitoneal para anestesia dos animais para implante de eletrodos para aquisição de sinal cerebral.

O anestésico Cloridrato de Quetamina foi obtido do Laboratório Köing (Santana de Parnaíba, SP, Brasil), O Cloridrato de Xilazina foi obtido do laboratório Vallée (Montes Claros, MG, Brasil). Flunitrazepam (Rohypnol 1mg/comprimido) laboratório Roche.

3.1.4. Cirurgia para implante de eletrodos

Os animais foram anestesiados com uma associação de Cloridrato de Xilazina (5 mg/kg) e Cloridrato de Cetamina (50mg/kg) por via intraperitoneal. Após o animal apresentar a perda de reflexo interdigital foi fixado no aparelho estereotáxico, para a implantação de eletrodos. O procedimento será iniciado com a tricotomia da pele da região da cabeça, com adequada assepsia, foi feito a infiltração de lidocaína a 2% no local da incisão cirúrgica que contem 1,0 cm rostro-caudal na linha mediana, expondo a superfície óssea do crânio. A lidocaína também foi aplicada no conduto auditivo externo para reduzir os efeitos da pressão das barras do aparelho estereotáxico. Após a exposição do osso do crânio foram feitas duas perfurações com aparelho odontológico, obedecendo as coordenadas estereotáxicas 0,0 mm para bregma, 1 mm latero-lateral, onde foram implantados os eletrodos que apresentam 1 mm de diâmetro e acomodados na dura-máter, e fixado com acrílico autopolimerizante de uso odontológico.

3.1.5. Eutanásia dos animais

Os animais utilizados no estudo foram submetidos à eutanásia ao final do experimento. Para isso, foi utilizada a técnica de aprofundamento de plano anestésico com quetamina (300mg/kg i.p.), Xilazina (20 mg/kg i.p.) e Diazepam (10mg/kg i.p.) para evitar ao máximo maiores sofrimentos aos animais.

3.2. ANÁLISE E REPRESENTAÇÃO DOS DADOS E REGISTROS

3.2.1. Análise de registro

O principal meio de obtenção de dados foram registros eletrofisiológicos de potencial de campo, que foram realizados através de um amplificador diferencial com alta impedância de entrada AC (Grass Technologies, Modelo P511) ajustados com filtragem de 0,3 Hz (passa baixa) e 300 Hz (passa alta), monitorados com um osciloscópio (Protek, Modelo 6510), e continuamente digitalizados em uma taxa de 1 KHz por um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (National Instruments, Austin, TX). Os dados foram armazenados em disco rígido e processados através de um software especializado (LabVIEW Express). Para análise das modificações neuronais, foi utilizado o programa Signal® 3.0 e Matlab® 7.1, no qual foi possível inspecionar a frequência das ondas cerebrais. O eletrodo de registro estava localizado no lado direito do hemisfério, e do lado esquerdo o eletrodo de referência. Todo o experimento foi executado dentro da gaiola de Faraday. Após 10 minutos de acomodação, foi feito o registro de duração de 2 minutos para cada animal.

3.2.2. Análise de dados

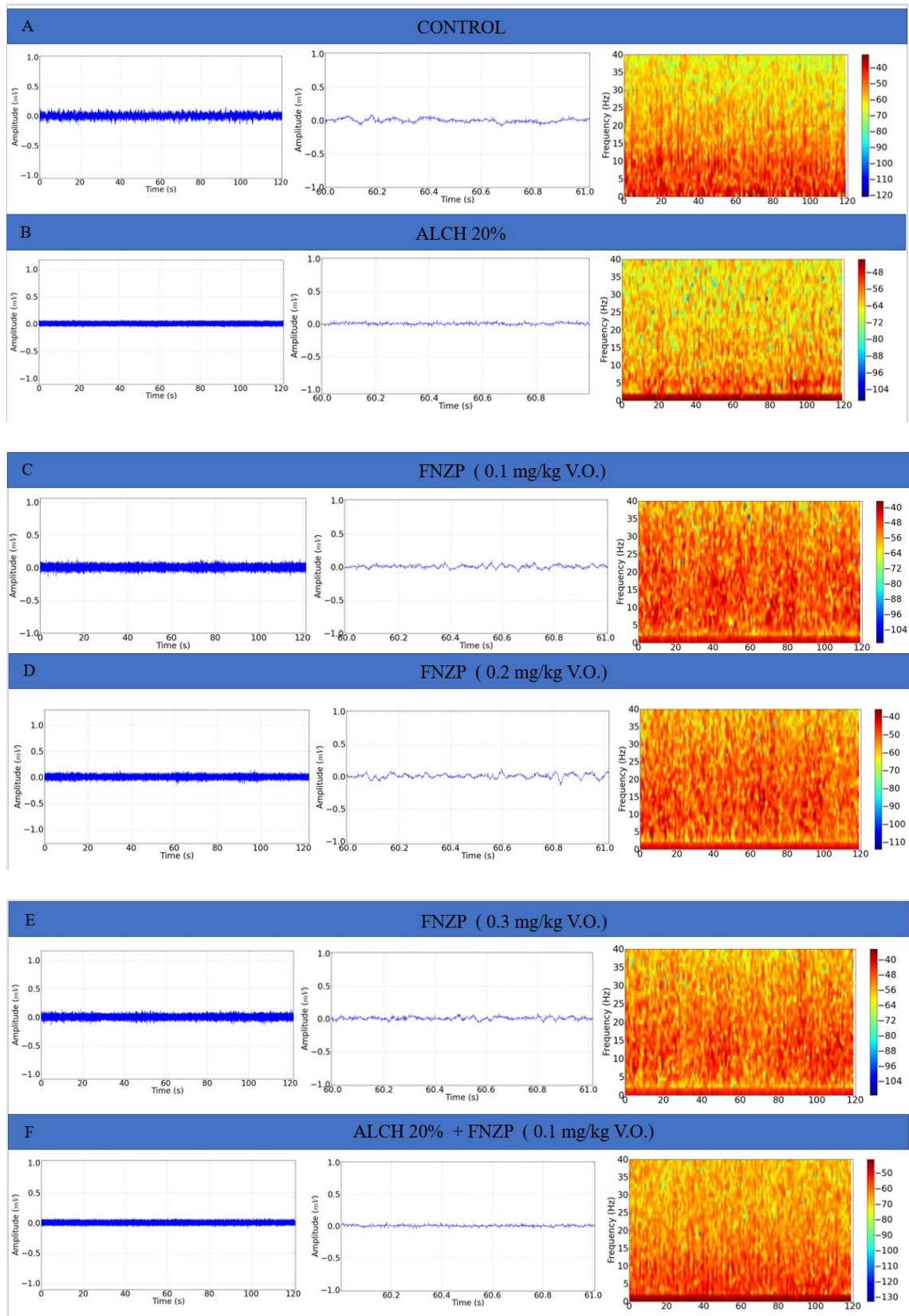
Para as análises dos sinais adquiridos uma ferramenta foi construída usando a linguagem de programação Python versão 2.7. As bibliotecas Numpy e Scipy foram usadas para o processamento matemático e a biblioteca Matplotlib para os gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida utilizando a biblioteca PyQt4. Os gráficos de amplitude demonstram a diferença de potencial entre os eletrodos de referência e de registro. Nos sinais foram observadas 1000 amostras por segundo. Os espectrogramas foram calculados usando uma janela de Hamming com 256 pontos (256/1000 segundos), cada quadro foi gerado com uma sobreposição de 128 pontos por janela. Para cada

quadro a densidade de potência espectral (PSD) foi calculada pelo método periodograma média de Welch. O histograma de frequência será gerado pelo primeiro cálculo do PSD do sinal usando a janela de Hamming com 256 pontos, sem sobreposição, com o PSD, resultando um histograma construído com caixas de 1 Hz. Para analisar a diferença entre os experimentos, um gráfico com a média e desvio padrão de PSD de vários experimentos foi construído, cada onda do gráfico foi gerada a partir de um conjunto de testes, onde o PSD foi gerado e calculado a média e o desvio padrão de cada grupo, para o cálculo da janela PSD Hamming foi usado 256 pontos sem sobreposição.

3.3.CONFORMAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi realizado após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação da UFPA (CEPAE-UFPA) sob CEUA nº 6233270619 e pelo responsável do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. Em concordância com as condições anteriores, a pesquisa seguiu os preceitos legais necessários, tomando como embasamento jurídico/ético os regimentos estabelecidos pela legislação nacional para utilização e criação de animais para experimentação e pelos princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

4. RESULTADOS



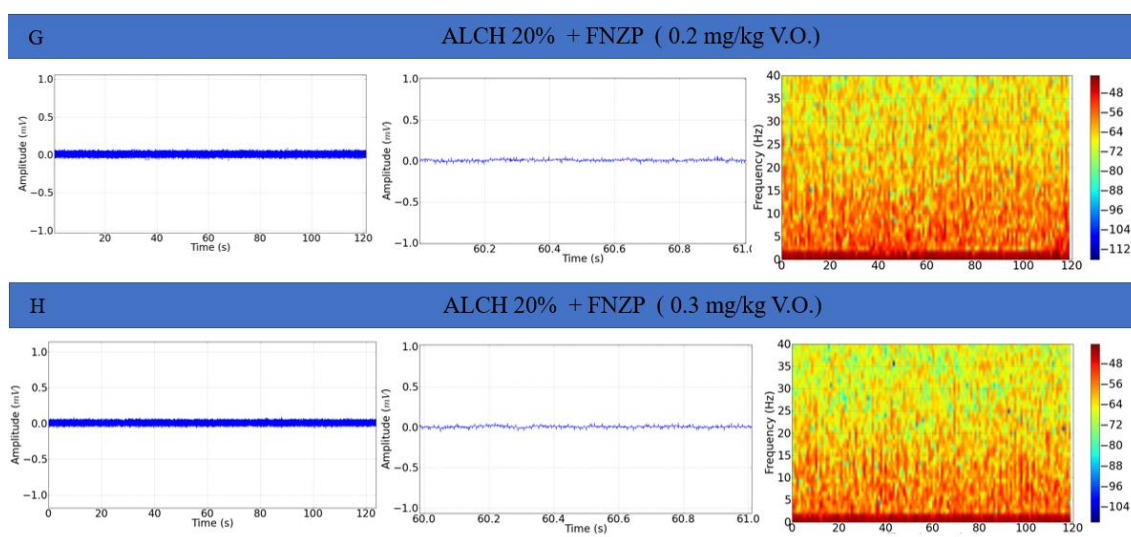


Figura 3: Demonstrativo dos registros obtidos após administração de álcool e flunitrazepam, registros com duração de dois minutos (esquerda), amplificação dos registros (centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita). Registro com traçado eletrocorticográfico (ECoG) controle (A); Registro ECoG obtido após administração de álcool 20% (1mL/100g VO) (B); Traçado ECoG obtido após administração de flunitrazepam 0,1 mg/kg VO (C); Registro ECoG obtido após administração de flunitrazepam 0,2 mg/kg VO (D); Registros ECoG obtidos após administração de 0,3 mg/kg VO (E); Registro ECoG obtido após administração de álcool 20% + Flunitrazepam 0.1mg/kg VO (F); Registro ECoG obtido após administração de álcool 20% + Flunitrazepam 0,2mg/kg VO (G); Registro ECoG obtido após administração de álcool 20% + Flunitrazepam 0,3mg/kg VO (H) .

No registro controle pode ser observado regularidade no traçado eletrocorticográfico, o que pode ser notado a partir da amplificação do registro e espectrograma demonstrando maior intensidade de energia nas frequências abaixo de 10 Hz (Fig. 1 A), a média de potência obtida no grupo foi de $0,7030 \pm 0,08959 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ (Fig. 2 A).

Após a administração de álcool pode ser observado diminuição na amplitude do registro (fig. 1B), o espectrograma demonstra menor intensidade de potência (fig. 1B), este grupo apresentou média de potência linear até 40 Hz de $0,1213 \pm 0,01074 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, demonstrou diferença estatística para o grupo controle ($P < 0,0001$) (Fig. 2 A). Após a administração de flunitrazepam nas doses de 0,1, 0,2 e 0,3 mg/kg os traçados apresentaram maiores irregularidades com amplitude acima de 0,05 mV e maior distribuição de potencias nos espectrogramas até 40 Hz (Fig 1 C, D e E). As médias de potências lineares respectivas de $0,5014 \pm 0,06054 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, $0,4760 \pm 0,08207$

$\text{mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ e $0,5115 \pm 0,07469 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentaram diferença estatística para grupo controle e álcool ($P < 0,0001$).

Após administração da associação álcool e flunitrazepam as amplitudes dos registros diminuem e se tornam menos irregulares, com a amplitude abaixo dos $0,05\text{mV}$. Os espectrogramas apresentam queda nas potências de energia (fig.1 F, G e H). As médias de potência linear para os grupos álcool flunitrazepam apresentaram médias de $0,1233 \pm 0,01715 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, $0,1255 \pm 0,01401 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ e $0,1049 \pm 0,01892 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença para o grupo controle, Flunitrazepam $0,1\text{mg/kg}$, Flunitrazepam $0,2 \text{ mg/kg}$ e flunitrazepam $0,3 \text{ mg/kg}$ $P < 0,0001$) (Fig. 2 A).

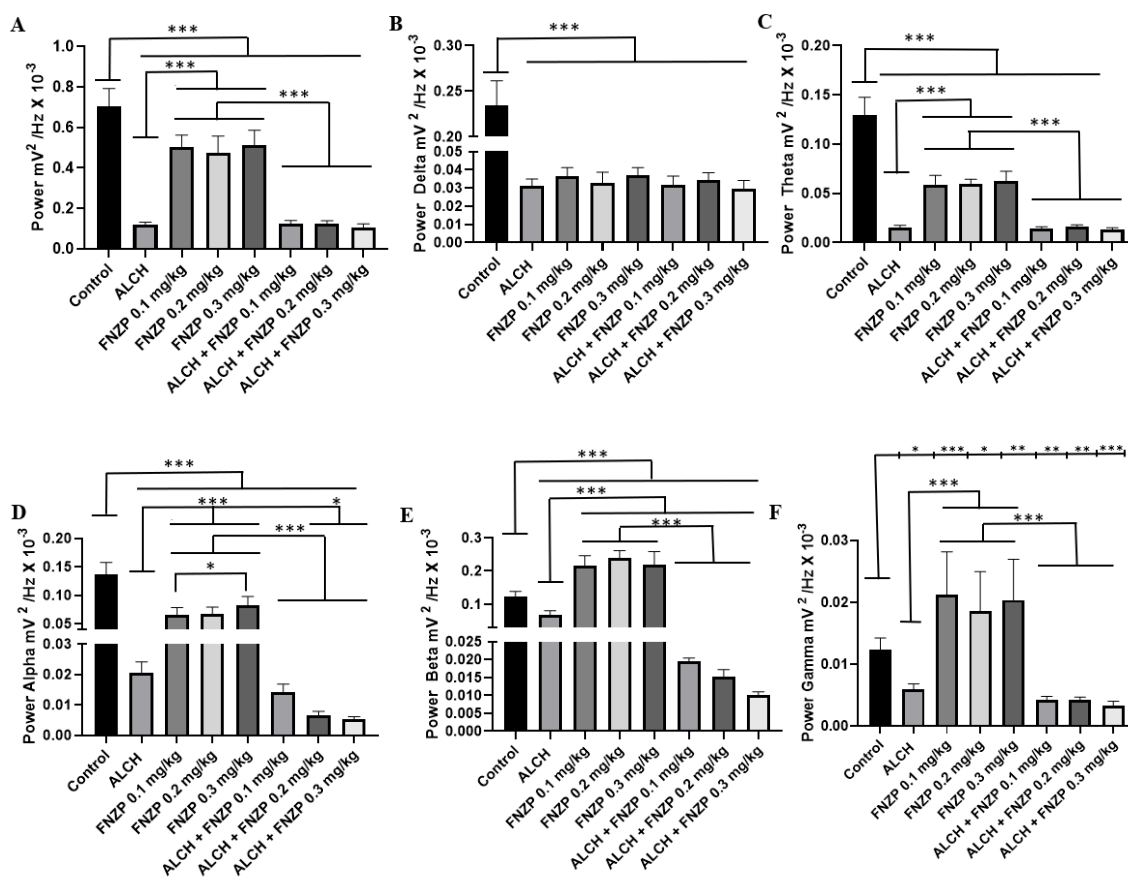


Figura 4: Gráfico demonstrando as médias de potências dos registros da atividade captado pelos eletrodos para os grupos (A), Avaliação da potência da atividade nas oscilações em delta (B); Análise das potências das oscilações em theta (C); Análise das potências dos grupos nas oscilações em Alfa (D); Análise das médias de potências nas oscilações em Beta (E) e Análise das potências nas oscilações em gamma (F). Após ANOVA e teste de Turkey, (*) $P < 0,01$; (**) $P < 0,001$; (***) $P < 0,0001$.

A média de oscilações cerebrais em delta para o grupo controle foi de $0,02341 \pm 0,02752 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, para este grupo todos os outros apresentaram diferença estatística ($P < 0,0001$) em decorrência da diminuição das oscilações em delta. Os grupos álcool ($0,03110 \pm 0,003793 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$); Grupos Flunitrazepam 0,1 ($0,03658 \pm 0,004676 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), flunitrazepam 0,2 ($0,03256 \pm 0,006148 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), flunitrazepam 0,3 ($0,03730 \pm 0,003922 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), grupo álcool flunitrazepam 0,1 ($0,03157 \pm 0,004925 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), álcool flunitrazepam 0,2 ($0,03432 \pm 0,004089 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e álcool flunitrazepam 0,3 ($0,02953 \pm 0,004558 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) (fig. 2 B).

Houve diminuição nas potências de theta em todos os grupos quando comparado com o grupo controle ($0,1291 \pm 0,01869 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($P < 0,0001$). O grupo álcool ($0,01538 \pm 0,002185 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou redução nas oscilações em theta e manteve diferença estatística ($P < 0,0001$) para os grupos flunitrazepam 0,1 ($0,05915 \pm 0,009238 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), Flunitrazepam 0,2 ($0,05936 \pm 0,005033 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), Flunitrazepam 0,3 ($0,06231 \pm 0,010139 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$). Os grupos Flunitrazepam 0,1, 0,2 e 0,3 mg/kg apresentaram diferença estatística ($P < 0,0001$) para os grupos álcool Flunitrazepam 0,1 ($0,01390 \pm 0,002145 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), álcool flunitrazepam 0,2 ($0,01588 \pm 0,002205 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e álcool flunitrazepam ($0,01321 \pm 0,001960 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) em decorrência da diminuição da potência de theta (fig. 2 C).

Houve diminuição das oscilações em alfa ($P < 0,0001$) quando os grupos foram comparados com o controle ($0,1368 \pm 0,02776 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$). O grupo álcool ($0,02070 \pm 0,0035502 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) apresentou diferença ($P < 0,0001$) para os grupos flunitrazepam 0,1 ($0,06579 \pm 0,01237 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), flunitrazepam 0,2 ($0,06667 \pm 0,01235 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), flunitrazepam 0,3 ($0,08314 \pm 0,01463 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$). O grupo álcool também apresentou diferença estatística ($p < 0,01$) para os grupos álcool flunitrazepam 0,1 ($0,01425 \pm 0,002577 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), álcool flunitrazepam 0,2 ($0,006502 \pm 0,001392 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e álcool flunitrazepam 0,3 ($0,005402 \pm 0,0007311 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), em decorrência de sua diminuição (fig. 2 D).

Para as oscilações em beta todos os grupos apresentaram diferença estatística ($P < 0,0001$) para o grupo controle ($0,1223 \pm 0,01647 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$). Devido a diminuição das oscilações em beta no grupo álcool ($0,06645 \pm 0,01331 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$)

apresentou diferença estatística ($P < 0,0001$) para os grupos Flunitrazepam 0,1 ($0,02161 \pm 0,03008 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), flunitrazepam 0,2 ($0,2382 \pm 0,02293 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), flunitrazepam 0,3 ($0,2176 \pm 0,04078 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), onde houve aumento das potências nas oscilações em beta. Em decorrência da diminuição acentuada de Beta nos grupos da associação álcool flunitrazepam 0,1 ($0,01949 \pm 0,001003 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), álcool flunitrazepam 0,2 ($0,01526 \pm 0,001994 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), álcool flunitrazepam 0,3 ($0,01011 \pm 0,0009309 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) manteve diferença estatística para os grupos álcool, flunitrazepam 0,1, flunitrazepam 0,2 e flunitrazepam 0,3 ($P < 0,0001$) (Fig. 2 E).

Após administração de flunitrazepam 0,1, 0,2 e 0,3 mg/kg houve aumento nas oscilações em gama ($0,02132 \pm 0,006896 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), ($0,01866 \pm 0,006323 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e ($0,02042 \pm 0,006597 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) respectivamente. Demonstrando diferença estatística para o controle ($0,01237 \pm 0,001904 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e grupo álcool ($0,005919 \pm 0,0009495 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($P < 0,0001$). Para os grupos de associação álcool flunitrazepam 0,1 ($0,004302 \pm 0,0005440 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), álcool flunitrazepam 0,2 ($0,004177 \pm 0,0004988 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e álcool flunitrazepam 0,3 ($0,003368 \pm 0,0006748 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) em decorrência da diminuição das oscilações em gama mantiveram diferença estatística para os grupos flunitrazepam 0,1, 0,2 e 0,3 e grupo controle ($P < 0,0001$).

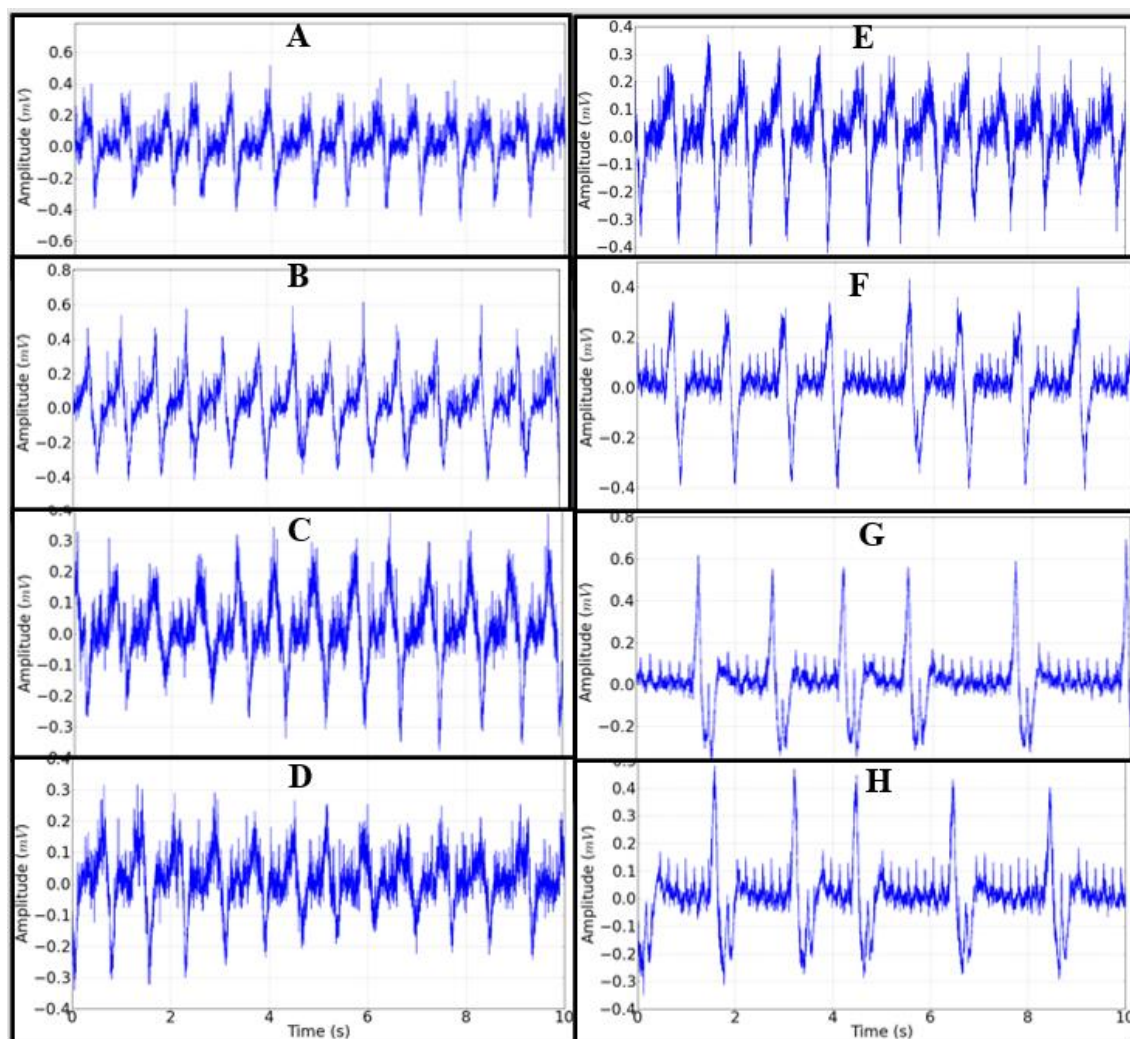


Figura 5- Demonstrativo dos registros eletromiográficos feitos no decimo músculo intercostal do rato. Grupo controle (A), grupo álcool (B), grupo flunitrazepam 0,1 mg/kg (C), grupo flunitrazepam 0,2 mg/kg (D), Grupo flunitrazepam 0,3mg/kg (E), álcool flunitrazepam 0,1mg/kg (F), álcool flunitrazepam 0,2 mg/kg (G) e álcool flunitrazepam 0,3 mg/kg (H). Cada registro com duração de 10 segundos.

Houve manutenção da frequência respiratória para os grupos: controle ($66,67 \pm 4,796$ / minuto), grupo álcool ($67,11 \pm 8,433$ / minuto), grupo flunitrazepam 0,1 mg/kg ($69,11 \pm 7,079$ / minuto), grupo flunitrazepam 0,2 mg/kg ($70,44 \pm 4,773$ / minuto), grupo flunitrazepam 0,3 mg/kg ($66,44 \pm 5,457$ / minuto) (Fig. 3 A, B, C, D e E) e (Fig. 4 A). Porém houve diminuição da frequência respiratória ($P < 0,0001$) para os grupos que receberam a associação de álcool flunitrazepam 0,1 mg/kg ($50,57 \pm 3,606$ / minuto), álcool flunitrazepam 0,2mg/kg ($36,00 \pm 5,657$ / minuto) e álcool flunitrazepam 0,3mg/kg ($31,78 \pm 2,333$ / minuto). Os grupos que receberam doses de flunitrazepam 0,2 mg/kg e 0,3 mg/kg associado ao álcool apresentaram maior depressão respiratório ($P < 0,0001$),

quando comparados ao grupo que recebeu flunitrazepam 0,1 mg/kg associado ao álcool. (Fig.3 F, G e H) e (Fig. 4 A).

Para avaliação da potência de contração muscular do decimo intercostal durante o tratamento foi constatado que o grupo controle ($17,39 \pm 4,086 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e grupo álcool ($14,98 \pm 1,830 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) em decorrência da diminuição da potência apresentaram diferença estatística ($P < 0,0001$) para os grupos flunitrazepam 0,1 mg/kg ($10,87 \pm 1,312 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), flunitrazepam 0,2 mg/kg ($9,030 \pm 0,6202 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e flunitrazepam 0,3 mg/kg ($10,09 \pm 0,9611 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e pelo aumento da potência ($P < 0,0001$) para os grupos álcool flunitrazepam 0,2mg/kg ($21,85 \pm 2,338 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e grupo álcool flunitrazepam 0,3 mg/kg ($23,71 \pm 1,301 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$). Os grupos tratados somente com flunitrazepam apresentaram diferença estatística ($P < 0,0001$) para os grupos que receberam a associação álcool flunitrazepam (Fig. 4 B).

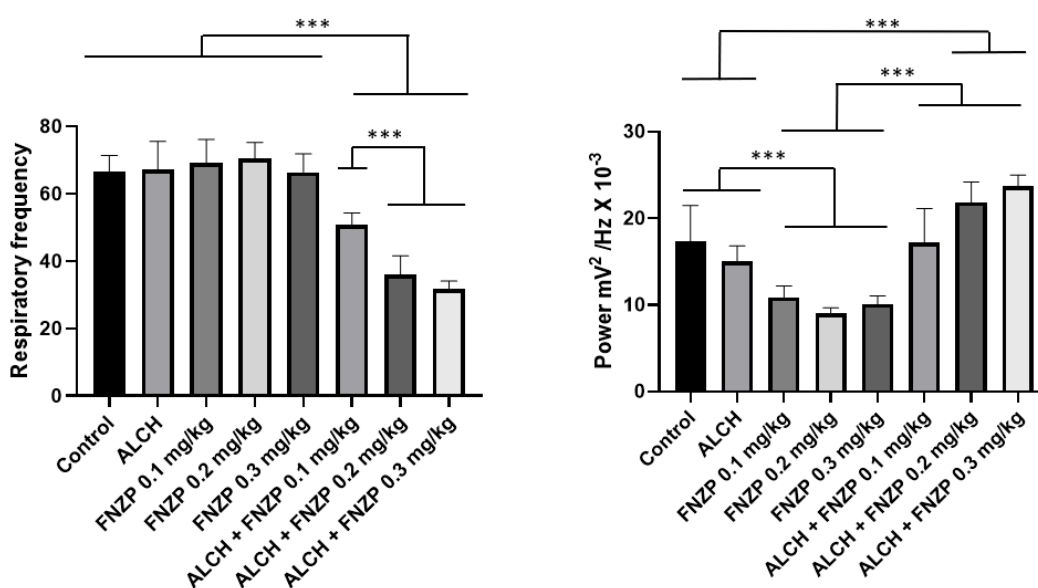


Figura 6: Gráfico demonstrando as médias de frequência respiratória durante os tratamentos (A); gráfico demonstrando as médias de potência das contrações do músculo intercostal dos animais submetido ao tratamento (B). Após ANOVA e teste de Turkey, (***) $P < 0.0001$.

5. DISCUSSÃO

O exame eletrocorticográfico corresponde à medição da atividade elétrica com o objetivo de registrar alterações de funcionamento na atividade cerebral em diferentes áreas. Em seu resultado, são geradas diferentes tipos de ondas cerebrais pela atividade elétrica (SANEI; CHAMBERS, 2007).

O álcool presentes nas bebidas alcoólicas é o Etanol, o qual consiste em duas cadeias carbônicas em um grupo hidroxila (-OH). As características químicas, o baixo peso molecular e o balanço hidrofílico-hidrofóbico garantem ao etanol a elevada capacidade de difusão pelos diferentes tecidos do organismo, conseqüentemente permitindo boa biodisponibilidade nos tecidos do sistema nervoso central (SNC) (COSTARDI et al., 2015; SIGEL; ERNST, 2018).

Farmacologicamente o álcool se comporta como um psicotrópico depressor do SNC. Essas propriedades presentes na substância são correlacionadas à sua ação em diversos neurotransmissores, mas está especialmente relacionada à ação estimuladora do receptor do ácido gama-aminobutírico (GABA). O Etanol irá ligar-se ao receptor e potencializar a ação depressora gerada pelo neurotransmissor GABA. O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC, reduzindo a atividade dos neurônios glutamatérgicos, os principais responsáveis pela ativação do SNC (COSTARDI et al., 2015; SIGEL; ERNST, 2018). Nossos resultados demonstraram redução da intensidade de potência do sinal elétrico no grupo em que foi administrado o álcool, com diferença significativa do grupo controle, corroborando com o demonstrado na literatura.

Outro grupo de substâncias semelhantes são os benzodiazepínicos. Semelhantemente ao álcool eles são agem como estimuladores da atividade GABAérgica. São amplamente utilizados no mundo todo na prática clínica como ansiolíticos, redutores da ansiedade, hipnóticos-sedativos e relaxantes musculares (CLOOS; LIM COW; BOCQUET, 2021; QUAGLIATO; FREIRE; NARDI, 2018). Em nosso estudo a substância utilizada pertencente a este grupo foi o Flunitrazepam, nas doses de 0.1mg/kg/dose e 0.2 mg/kg/dose. Os resultados demonstraram maiores irregularidades com amplitude acima de 0.05 mV e maior distribuição de potencias nos espectogramas até 40 Hz, com diferenças significativas quando comparado ao grupo controle e ao grupo álcool, correspondente com sua ação de grande potência depressora

do SNC.

Os efeitos dos depressores do sistema nervoso central são semelhantes entre si e provocam sedação, perda de inibição social e relaxamento (ação ansiolítica). Além disso, todos eles possuem a capacidade de produzir dependência provocada pela liberação de dopamina no núcleo *accumbens* do circuito mesolímbico de recompensa (SIGEL; ERNST, 2018).

Quando administrados juntos, álcool e flunitrazepam, as amplitudes dos registros diminuem e se tornam menos irregulares, com a amplitude abaixo dos 0.05mV. Houve diferença significativa entre o grupo controle e os grupos com administração das substâncias isoladas, com resultados de menor intensidade de todos. Dessa forma, as duas substâncias apresentam efeitos sinérgicos observáveis no experimento. O uso concomitante das duas substâncias potencializa seus efeitos colaterais, provocando aumento da sonolência diurna, das quedas, do comprometimento cognitivo e até mesmo da *overdose* fatal (HIRSCHTRITT et al., 2019; UCHIDA et al., 2019).

Ainda, a concomitância do uso do álcool com os benzodiazepínicos é demonstrada pela redução significativa da frequência respiratória no grupo de associação álcool e flunitrazepam quando comparado aos demais e com aumento desta redução de acordo com a progressão de dose do flunitrazepam. Corroborando com isso, foi demonstrada maior atividade significativa dos músculos intercostais do animal no grupo de associação do flunitrazepam com o álcool, possivelmente por causa da depressão respiratória, com maior necessidade da musculatura acessória para realização da respiração. Com isso, reforça-se os riscos importantes à vida ocasionados pela combinação de uso do álcool com os benzodiazepínicos, como o flunitrazepam (HIRSCHTRITT et al., 2019; UCHIDA et al., 2019).

Ao analisarmos o padrão de ondas em cada grupo, observamos redução das ondas delta em todos os grupos de estudo. Tal achado é correlato ao potencial sedativo e redutor da atividade do SNC de ambas as drogas utilizadas (NISHIDA; ZESTOS; ASANO, 2016).

Estudos em humanos demonstraram que os benzodiazepínicos promovem aumento de amplitude das atividades de Beta, Sigma e Delta. Isso se deve à característica dessas ondas estarem intimamente relacionadas aos estados de repouso e de uma atividade

cognitiva diminuída (ENGEL; FRIES, 2010; NISHIDA; ZESTOS; ASANO, 2016). Em nosso estudo, houve aumento da atividade das ondas beta e sigma nos grupos em que houve administração de flunitrazepam e redução da atividade no grupo álcool quando comparados ao controle. Na associação álcool e flunitrazepam houve redução significativa da atividade de beta e sigma quando comparadas aos demais grupos, com redução progressiva à medida que havia aumento na dose de flunitrazepam. Tais resultados corroboram com os estudos presentes na literatura (ENGEL; FRIES, 2010; NISHIDA; ZESTOS; ASANO, 2016).

A atividade de alta frequência acoplada ao ritmo theta (4-7,5 Hz) foi proposta para manter a consciência, a percepção e a função cognitiva durante o estado de vigília, funções relacionadas à atividade cortical, em sua maior parte (ITO; MALDONADO; GRÜN, 2013; NISHIDA; ZESTOS; ASANO, 2016). Durante o período de sono é observado maior potências das frequências de onda de theta (CHAN et al., 2015). Em nosso experimento, as ondas Theta foram menores nos grupos álcool e álcool+flunitrazepam em todas as doses quando comparadas aos grupos que utilizaram flunitrazepam isoladamente. No entanto, as ondas Theta foram significativamente menores em todos os grupos quando comparados ao controle, corroborando com a perspectiva que o álcool compromete a atividade das ondas Theta de forma mais intensa do que os benzodiazepínicos. Nossos achados discordando dos artigos na literatura, nos quais são observado aumento da atividade de Theta em pacientes em uso agudo e crônico de álcool (CHAN et al., 2015; LÓPEZ-CANEDA et al., 2017).

Assim como as ondas Theta, as ondas gamma foram associadas à atividade sensorial, motora e cognitiva e o aumento da atividade dessas funções está correlacionado ao aumento da atividade das ondas gamma, com pequena redução durante o uso de benzodiazepínicos (ITO; MALDONADO; GRÜN, 2013; NISHIDA; ZESTOS; ASANO, 2016). Em nosso estudo, houve aumento da atividade de gamma nos grupos que fizeram uso isolado de flunitrazepam e redução nos grupos que fizeram uso de álcool e álcool+flunitrazepam quando comparados ao grupo controle. Dessa forma, nossos resultados são discordantes da literatura vigente (ITO; MALDONADO; GRÜN, 2013; NISHIDA; ZESTOS; ASANO, 2016).

6. CONCLUSÃO

O álcool e os benzodiazepínicos, ambos depressores do SNC, possuem ampla capacidade em diminuir a ansiedade, provocar miorelaxamento, perda da inibição social e sedação. Seus efeitos colaterais podem envolver aumento da sonolência diurna, das quedas, do comprometimento cognitivo e até mesmo da *overdose* fatal.

Nosso estudo avaliou os efeitos do álcool e dos benzodiazepínicos isolados e em associação na atividade do SNC e nos músculos. As duas drogas apresentaram perfil semelhante de ação redutora da atividade do SNC. Ainda, foi possível observar que a associação das duas drogas potencializou os efeitos sedativos e os efeitos colaterais redutores da atividade respiratória, com progressão do efeito de acordo com o aumento da dose de benzodiazepínico administrada.

Ainda, a associação de álcool com os benzodiazepínicos foi associada com maior necessidade de uso da musculatura acessória para realização da respiração nos sujeitos experimentais. Portanto, fica evidente a relação da combinação das duas drogas com a inibição do eixo respiratório e com a depressão da atividade respiratória, sendo potencializada com o aumento das doses de benzodiazepínicos utilizadas.

Por fim, foi possível observar que as alterações nos registros eletroencefalográficos permitiram a conclusão de que os efeitos de ambas as drogas são capazes de alterar o estado de vigília, as funções cognitivas e corticais nos sujeitos do experimento, evidenciado pelos diferentes padrões de ondas cerebrais observados nos grupos experimentais quando comparados ao grupo controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMATO, Laura et al. Benzodiazepines for alcohol withdrawal. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 3, 2010.

BRASIL, ministério da saúde. **Consumo de álcool no Brasil é superior à média mundial, diz OMS**. Disponível em: <http://www.unasus.gov.br/noticia/consumo-de-alcool-no-brasil-e-superior-media-mundial-diz-oms>. Acesso em abril de 2019.

CHAN, Arthur WK. Effects of combined alcohol and benzodiazepine: a review. **Drug and alcohol dependence**, v. 13, n. 4, p. 315-341, 1984.

CHAN, Julia K. M.; TRINDER, John; COLRAIN, Ian M.; NICHOLAS, Christian L. The Acute Effects of Alcohol on Sleep Electroencephalogram Power Spectra in Late Adolescence. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, [S. l.], v. 39, n. 2, p. 291–299, 2015. ISSN: 15300277. ISBN: 6139347661. DOI: 10.1111/acer.12621.

CLOOS, Jean Marc; LIM COW, Christopher Y. S.; BOCQUET, Valéry. Benzodiazepine high-doses: The need for an accurate definition. **International Journal of Methods in Psychiatric Research**, [S. l.], v. 30, n. 4, 2021. ISSN: 15570657. DOI: 10.1002/mpr.1888.

COSTARDI, João Victor Vezali; NAMPO, Rafael Augusto Teruaki; SILVA, Gabriella Lourenço; FERREIRARIBEIRO, Maria Aparecida; STELLA, Heryck José; BREDASTELLA, Mercia; MALHEIROS, Sônia Valéria Pinheiro. A review on alcohol: From the central action mechanism to chemical dependency. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S. l.], v. 61, n. 4, p. 381–387, 2015. ISSN: 18069282. DOI: 10.1590/1806-9282.61.04.381.

CREWS, Fulton T. et al. Adolescent alcohol exposure persistently impacts adult neurobiology and behavior. **Pharmacological Reviews**, v. 68, n. 4, p. 1074-1109, 2016.

DE SÁ, Armando Aparecido Impocetto et al. Adolescência e saúde. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 26, n. 51, p. 73-78, 2018.

ENGEL, Andreas K.; FRIES, Pascal. Beta-band oscillations--signaling the status quo? **Current opinion in neurobiology**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 156–65, 2010. ISSN: 1873-6882. DOI: 10.1016/j.conb.2010.02.015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20359884>.

FRAUGER, Elisabeth et al. Misuse of clonazepam (Rivotril): recent trends. **Thérapie**, v. 61, n. 1, p. 49-55, 2006.

FRIEDMANN, Peter D. et al. Screening and intervention for alcohol problems. **Journal of General Internal Medicine**, v. 15, n. 2, p. 84-91, 2000.

GARCIA, Leila Posenato; FREITAS, Lúcia Rolim Santana de. Consumo abusivo de álcool no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde 2013. **Epidemiologia e serviços de saúde**, v. 24, p. 227-237, 2015.

HIRSCHTRITT, Matthew E.; PALZES, Vanessa A.; KLINE-SIMON, Andrea H.; KROENKE, Kurt; CAMPBELL, Cynthia I.; STERLING, Stacy A. Benzodiazepine and unhealthy alcohol use among adult outpatients. **American Journal of Managed Care**, [S. l.], v. 25, n. 12, p. E358–E365, 2019. ISSN: 10880224.

ITO, Junji; MALDONADO, Pedro; GRÜN, Sonja. Cross-frequency interaction of the eye-movement-related LFP signals in V1 of freely viewing monkeys. **Frontiers in systems neuroscience**, [S. l.], v. 7, p. 1, 2013. ISSN: 1662-5137. DOI: 10.3389/fnsys.2013.00001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23420631>.

JOFFE, Max E. et al. Metabotropic glutamate receptors in alcohol use disorder: physiology, plasticity, and promising pharmacotherapies. **ACS chemical neuroscience**, v. 9, n. 9, p. 2188-2204, 2018.

LÓPEZ-CANEDA, Eduardo; CADAVEIRA, Fernando; CORREAS, Angeles; CREGO, Alberto; MAESTÚ, Fernando; HOLGUÍN, Socorro Rodríguez. The brain of binge drinkers at rest: Alterations in theta and beta oscillations in first-year college students with a binge drinking pattern. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, [S. l.], v. 11, n. September, p. 1–10, 2017. ISSN: 16625153. DOI: 10.3389/fnbeh.2017.00168.

LOUREIRO, Murilo Costa; ARAUJO, Laís Moreira Borges. **ÁLCOOL E COMPORTAMENTO SUICIDA. Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria**, v. 22, n. 1, 2018.

Marc A. Schuckit, **Etanol e metanol**. In: Laurence L. Brunton, Bruce A. Chabner, Björn C. Knollmann. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman&Gilman. 12ª Edição. Nova York, 2011. Mcgrawhill. Capítulo 23, Página 632.

MASUR, Jandira et al. Detecção precoce do alcoolismo em clínica médica através do questionário CAGE: utilidade e limitações. **J Bras Psiquiatr**, p. 31-4, 1985.

MCLELLAN, A. Thomas et al. Drug dependence, a chronic medical illness: implications for treatment, insurance, and outcomes evaluation. **Jama**, v. 284, n. 13, p. 1689-1695, 2000.

NISHIDA, Masaaki; ZESTOS, Maria M.; ASANO, Eishi. Spatial-temporal patterns of electrocorticographic spectral changes during midazolam sedation. **Clinical Neurophysiology**, [S. l.], v. 127, n. 2, p. 1223–1232, 2016. ISSN: 13882457. DOI: 10.1016/j.clinph.2015.10.044. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1388245715010299>.

QUAGLIATO, Laiana A.; FREIRE, Rafael C.; NARDI, Antonio E. Risks and benefits of medications for panic disorder: a comparison of SSRIs and benzodiazepines. **Expert Opinion on Drug Safety**, [S. l.], v. 17, n. 3, p. 315–324, 2018. ISSN: 1744764X. DOI: 10.1080/14740338.2018.1429403. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14740338.2018.1429403>.

SANEI, S.; CHAMBERS, J. A. EEG Signal Processing. **The Atrium, Southern Gate Chichester, England.**: John Wiley&Sons Inc, 2007.

SCHUCKIT, Marc A., **Etanol e metanol**. In: Laurence L. Brunton, Bruce A. Chabner, Björn C. Knollmann. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman&Gilman. 12ª Edição. Nova York, 2011. Mcgrawhill. Capítulo 23, Página 632.

SIGEL, Erwin; ERNST, Margot. The Benzodiazepine Binding Sites of GABAA Receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 39, n. 7, p. 659–671, 2018. ISSN: 18733735. DOI: 10.1016/j.tips.2018.03.006.

TABAKOFF, Boris; CORNELL, Neal; HOFFMAN, Paula L. Alcohol tolerance. **Annals of emergency medicine**, v. 15, n. 9, p. 1005-1012, 1986.

TAKITANE, Juliana et al. Aspectos médico-legais das substâncias utilizadas como facilitadoras de crime. **Saúde, Ética & Justiça**. 22(2):66-71, 2017. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2317-2770.v22i2p66-71>

TRAN, Vinh T. et al. GABA receptors are increased in brains of alcoholics. **Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society**, v. 9, n. 3, p. 289-292, 1981.

UCHIDA, Takahito; HIRANO, Jinichi; SAKURAI, Hitoshi; SUZUKI, Takefumi; MIMURA, Masaru; UCHIDA, Hiroyuki. Concomitant use of alcohol and benzodiazepine hypnotics in psychiatric outpatients: A cross-sectional survey. **International Clinical Psychopharmacology**, [S. l.], v. 34, n. 6, p. 291–297, 2019. ISSN: 14735857. ISBN: 000000000000. DOI: 10.1097/YIC.0000000000000264. WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. International Classification of Diseases (CID). 10th ed. Geneva, 2006

ANEXO 1 – PARECER CIRCUNSTACIADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UFPA
Universidade Federal do Pará

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "ACHADOS ELETROENCEFALOGRAFICOS NA ASSOCIAÇÃO ÁLCOOL-BENZODIAZEPÍNICOS", protocolada sob o CEUA nº 6233270619 (ID 001231), sob a responsabilidade de **Moisés Hamoy** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA) na reunião de 13/09/2019.

We certify that the proposal "EEG findings in alcohol benzodiazepine association", utilizing 36 Heterogenics rats (36 males), protocol number CEUA 6233270619 (ID 001231), under the responsibility of **Moisés Hamoy** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Para (CEUA/UFPA) in the meeting of 09/13/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2019** a **01/2020**

Área: **Instituto de Ciências Biológicas**

Origem: **Biotério Central ICB/UFPA**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **90 a 120 dias**

N: **36**

Linhagem: **wistar**

Peso: **200 a 300 g**

Local do experimento: **laboratório de farmacologia e toxicologia de produtos naturais**

Belém, 16 de maio de 2022

Prof. Dra. Barbarella de Matos Macchi
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará

Prof. Dra. Maria Vivina Barros Monteiro
Vice-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará