



Universidade  
Estadual de Goiás

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE**

**KAMILA SOUTO LEICHTWEIS**

---

---

**Padrão de consumo e comportamentos relacionados à  
dependência ao etanol em ratos adolescentes e adultos:  
influência do estresse neonatal e do sexo**

---

---

**Anápolis  
2018**

**KAMILA SOUTO LEICHTWEIS**

---

---

**Padrão de consumo e comportamentos relacionados à dependência ao etanol em ratos adolescentes e adultos: influência do estresse neonatal e do sexo**

---

---

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde.

Orientadora: Vanessa Cristiane de Santana Amaral

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Tadeu Marin

**Anápolis  
2018**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a  
Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás**

**BANCA EXAMINADORA DA QUALIFICAÇÃO DE MESTRADO**

**Aluna:** Kamila Souto Leichtweis

---

**Orientadora:** Profa. Dra. Vanessa Cristiane de Santana Amaral

---

**Coorientador:** Prof. Dr. Marcelo Tadeu Marin

**Membros:**

1. Profa. Dra. Vanessa Cristiane de Santana Amaral

2. Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Renata Mazaro e Costa (UFG)

3. Prof. Dr. Walter Dias Junior (UEG)

**OU**

4. Profa. Dra. Eliete Souza Santana (UEG)

5. Profa. Dra. Luciana Damacena Silva (UEG)

**Data: 30/10/2018**

---

"Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes."

**- Isaac Newton.**

*Dedico este trabalho em especial à minha família e a todos que acreditaram e contribuíram para essa conquista.*

## AGRADECIMENTOS

---

Hoje vivo uma realidade que parece um sonho, mas foi preciso muito esforço, determinação e paciência para chegar até aqui, e eu não conseguiria tudo isso sozinha. Minha eterna gratidão a todos aqueles que colaboraram para que este sonho pudesse ser concretizado.

Gostaria de agradecer primeiramente ao fomento concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG – processo nº 201610267001023-Programa Primeiros Projetos), que viabilizou o desenvolvimento desse estudo, assim como, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo durante parte do mestrado. Também agradeço à Universidade Estadual de Goiás e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde por terem fornecido todo auxílio acadêmico para a realização do meu mestrado.

Sou imensamente grata por ter tido a **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Cristiane de Santana Amaral** como orientadora. Uma profissional extremamente determinada e competente, que me deu a oportunidade de conhecer o mundo da neurociência e da farmacodependência. Ingressei nesse mestrado vindo de uma área bem diferente, e você aceitou o desafio de receber em seu laboratório cheio de farmacêuticos, uma bióloga sem experiência nessa área de pesquisa. Agradeço a você pela sua dedicação, paciência, por toda ajuda nos momentos de sufoco e, principalmente, por realmente ter sido uma orientadora, guiando meus passos durante o mestrado, contribuindo fortemente para meu crescimento científico, profissional e pessoal. Com certeza acima de tudo, você me preparou para a vida.

Em especial, gostaria de agradecer aos meus pais, **Leila Aparecida Souto Leichtweis** e **Nelson Roque Leichtweis**, que foram os grandes fomentadores dos meus sonhos, me proporcionando umas das realizações pessoais mais importantes da minha vida. Obrigada pai e mãe! Apesar da distância e de passarmos até meses sem nos vermos, vocês se fazem presente em minha vida, me apoiando nos momentos difíceis e sempre me incentivando a continuar...e principalmente a nunca desistir! Tenho muito orgulho de ser filha de vocês, e espero que um dia eu possa retribuir tudo o que vocês já fizeram por mim. Amo vocês!

À minha irmã **Isabela Souto Leichtweis**, agradeço por todo apoio e carinho! Por assumir às vezes o papel de irmã mais velha... sempre cuidando de mim e me socorrendo nos momentos mais difíceis. Sou muito grata por ter você ao meu lado todos os dias, principalmente nessa fase do mestrado, pois só você sabe o que passei... e com certeza sem você tudo seria mais difícil. Saiba que tenho muito orgulho do nosso relacionamento de irmãs, que é raro de se ver... muito amor envolvido!

Sou muito grata também ao meu namorado **Philip Teles Soares**, que ao longo desses 6 anos de relacionamento me mostrou o verdadeiro significado da palavra companheirismo! Me apoiou sempre em todos os momentos da minha vida pessoal e acadêmica. Agradeço a você por todo carinho, respeito, amizade, pelos momentos de felicidade, por esse sorriso que me conforta, e principalmente pela paciência! O caminho até aqui não teria sido fácil sem você ao meu lado. Te amo!

À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Damacena Silva** pela amizade, pelas conversas, pelas críticas, pelos conselhos e por estar sempre disposta a ajudar. O seu apoio e carinho foram muito importantes nessa trajetória.

Aos colegas de laboratório, agradeço à **Patrícia Xavier, Michele Ribeiro, Ana Luísa Trautenbergmüller, Manuella Machado e Jonathan Almeida**, que se dispuseram a me ensinar o “be a bá” da experimentação animal. Agradeço também à **Graziele Caixeta, Geovanna Kelly Chagas, Amanda Peixoto e Marianna Tavares** pela ajuda nos experimentos, o que tornou mais fácil a execução do projeto. E gostaria de agradecer de forma especial à **Isabella Lacerda e Marielly Carvalho**, que foram meus dois grandes pilares nesse mestrado. Agradeço a vocês por todo o companheirismo, dedicação e disposição em me ajudar. Agradeço ainda, pela nossa amizade, que foi um verdadeiro presente que o mestrado me deu.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Tadeu Marin**, da UNESP de Araraquara, agradeço pela coorientação e colaboração nos experimentos. Sua experiência foi fundamental neste trabalho.

Aos professores membros da banca examinadora, **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Mazaro e Costa e Prof. Dr. Walter Dias Junior**, agradeço por terem aceito o convite para participar desse momento, pela atenção e interesse na leitura deste trabalho e pelas contribuições.

Sou grata também a todos funcionários da UEG que fizeram parte da minha rotina diária. Agradeço ao **Ailton Correia**, responsável pela manutenção, que me

socorreu várias vezes com seu suporte técnico para que a execução dos experimentos. Às responsáveis pelos serviços gerais, que deixavam o nosso ambiente de trabalho sempre limpo e organizado. E aos guardas, agradeço a vocês pela proteção e companhia aos finais de semana.

Agradeço também à recém-chegada aluna de mestrado **Yasmin Reis**, por sempre estar disposta a ajudar. Seu apoio foi muito importante.

A todos da minha família e aos amigos, agradeço pelos momentos de aconchego, compreensão nas diversas oportunidades em que me ausentei por motivos de estudo e para a realização de experimentos tentando concluir essa etapa importante em minha vida.

Agradeço a **TODOS** que de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho, sem vocês não seria possível chegar até aqui. **MUITO OBRIGADA!**

## SUMÁRIO

---

---

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
1.1 <i>O consumo de etanol.....</i>	19
1.2 <i>Padrão de consumo.....</i>	22
1.3 <i>Síndrome de dependência ao etanol.....</i>	24
1.4 <i>Etanol e o sistema de recompensa.....</i>	27
1.5 <i>Estresse e dependência.....</i>	31
1.6 <i>Estresse neonatal.....</i>	35
1.7 <i>Modelos animais de estresse neonatal.....</i>	37
1.8 <i>Modelos animais de exposição ao etanol.....</i>	39
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>43</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>44</b>
3.1 <i>Objetivos geral.....</i>	44
3.2 <i>Objetivos específicos.....</i>	44
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>45</b>
4.1 <i>Aspectos éticos.....</i>	45
4.2 <i>Animais.....</i>	45
4.3 <i>Acasalamento e condições de manutenção da prole.....</i>	45
4.4 <i>Estresse neonatal.....</i>	46
4.4.1 <i>Separação materna prolongada (SM 180).....</i>	46
4.4.2 <i>Separação materna breve (SM 15).....</i>	47
4.4.3 <i>Controle.....</i>	48
4.5 <i>Delineamento experimental.....</i>	48
4.6 <i>Teste do labirinto em cruz elevado.....</i>	49
4.7 <i>Avaliação do consumo de etanol por livre escolha.....</i>	50

4.8 <i>Indução da preferência condicionada por lugar ao etanol</i> .....	52
4.9 <i>Protocolos experimentais</i> .....	53
4.9.1 <b><u>Experimento 1</u></b> : Efeitos do estresse neonatal sobre a exibição de comportamentos relacionados a ansiedade no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos Wistar adolescentes e adultos, machos e fêmeas.....	53
4.9.2 <b><u>Experimento 2</u></b> : Efeitos do estresse neonatal sobre o consumo de etanol por livre escolha em ratos Wistar adolescentes, machos e fêmeas.....	54
4.9.3 <b><u>Experimento 3</u></b> : Efeitos do estresse neonatal sobre o consumo de etanol por livre escolha em ratos Wistar adultos, machos e fêmeas.....	55
4.9.4 <b><u>Experimento 4</u></b> : Efeitos do estresse neonatal sobre a indução da preferência condicionada por lugar ao etanol em ratos Wistar adolescentes, machos e fêmeas.....	55
4.9.5 <b><u>Experimento 5</u></b> : Efeitos do estresse neonatal sobre a indução da preferência condicionada por lugar ao etanol em ratos Wistar adultos, machos e fêmeas.....	56
4.10 <i>Análise estatística</i> .....	57
<b>5. RESULTADOS</b> .....	<b>58</b>
5.1 <b><u>Experimento 1</u></b> : Avaliação dos efeitos do estresse neonatal sobre os comportamentos relacionados a ansiedade no teste do LCE em ratos Wistar adolescentes e adultos, machos e fêmeas.....	58
5.2 <b><u>Experimento 2</u></b> : Efeitos do estresse neonatal sobre o consumo de etanol por livre escolha em ratos Wistar adolescentes, machos e fêmeas.....	61
5.3 <b><u>Experimento 3</u></b> : Efeitos do estresse neonatal sobre o consumo de etanol por livre escolha em ratos Wistar adultos, machos e fêmeas.....	63

5.4 <b>Experimento 4:</b> Efeitos do estresse neonatal sobre a indução da preferência condicionada por lugar (PCL) ao etanol em ratos Wistar adolescentes, machos e fêmeas.....	66
5.5 <b>Experimento 5:</b> Efeitos do estresse neonatal sobre a indução da preferência condicionada por lugar (PCL) ao etanol em ratos Wistar adultos, machos e fêmeas.....	68
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
6.1 <b>Experimento 1:</b> Efeitos do estresse neonatal sobre os comportamentos relacionados a ansiedade no teste do LCE em ratos Wistar adolescentes e adultos, machos e fêmeas.....	71
6.2 <b>Experimentos 2 e 3:</b> Efeitos do estresse neonatal sobre o consumo de etanol por livre escolha em ratos Wistar adolescentes e adultos, machos e fêmeas.....	72
6.3 <b>Experimentos 4 e 5:</b> Efeitos do estresse neonatal sobre a preferência condicionada por lugar ao etanol em ratos Wistar adolescentes e adultos, machos e fêmeas.....	80
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>88</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>90</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>119</b>

## LISTA DE FIGURAS

---

---

Figura 1 – Representação de um corte sagital médio do encéfalo humano destacando as principais projeções dos neurônios dopaminérgicos do sistema de recompensa.....	28
Figura 2 – Representação esquemática dos sistemas responsáveis pela resposta ao estresse.....	33
Figura 3 – Procedimento de separação materna mostrando os filhotes mantidos na caixa viveiro sob iluminação incandescente vermelha para manutenção da temperatura corporal.....	47
Figura 4 – Representação esquemática do delineamento experimental de estresse neonatal e a sequência cronológica da realização dos testes em ratos Wistar adolescentes e adultos.....	49
Figura 5 – Labirinto em cruz elevado.....	50
Figura 6 – Representação esquemática do protocolo de consumo de etanol por livre escolha.....	51
Figura 7 – Caixas utilizadas no teste de Preferência Condicionada por Lugar (PCL).....	52
Figura 8 – Representação esquemática do protocolo experimental do teste de preferência condicionada por lugar.....	53
Figura 9 – Representação esquemática do protocolo experimental utilizado no estudo dos efeitos da exposição à separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a avaliação do consumo de etanol em ratos Wistar adolescentes, machos e fêmeas.....	54
Figura 10 – Representação esquemática do protocolo experimental utilizado no estudo dos efeitos da exposição à separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre avaliação do consumo de etanol em ratos Wistar adultos, machos e fêmeas.....	55
Figura 11 – Representação esquemática do protocolo experimental utilizado no estudo dos efeitos da exposição à separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a indução da preferência condicionada por lugar ao etanol em ratos Wistar adolescentes, machos e fêmeas.....	56

Figura 12 – Representação esquemática do protocolo experimental utilizado no estudo dos efeitos da exposição à separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a indução da preferência condicionada por lugar ao etanol em ratos Wistar adultos, machos e fêmeas.....	57
Figura 13 – Efeitos da separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a porcentagem de entradas e tempo nos braços abertos (BA) e frequência de entradas nos braços fechados (BF) no labirinto em cruz elevado em ratos adolescentes (n = 10-12/grupo).....	58
Figura 14 – Efeitos do SM 15 ou SM 180 durante o período neonatal sobre a porcentagem de entradas e tempo nos braços abertos (BA) e frequência de entradas nos braços fechados (BF) no labirinto em cruz elevado em ratas adolescentes (n = 10-11/grupo).....	59
Figura 15 – Efeitos da separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a porcentagem de entradas e tempo nos braços abertos (BA) e frequência de entradas nos braços fechados (BF) no labirinto em cruz elevado em ratos adultos (n = 10-11/grupo).....	60
Figura 16 – Efeitos da separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a porcentagem de entradas e tempo nos braços abertos (BA) e frequência de entradas nos braços fechados (BF) no labirinto em cruz elevado em ratas adultas (n = 10-11/grupo).....	61
Figura 17 – Média do consumo das soluções de etanol e água (g/kg) em ratos adolescentes submetidos aos protocolos de separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) durante o período neonatal (n = 10-12/grupo). (A) Média do consumo total de etanol (g/kg). (B) Média do consumo da solução de etanol a 4% (g/kg). (C) Média do consumo da solução de etanol a 8% (g/kg). (D) Média do consumo de água (g/kg).....	62
Figura 18 – Média do consumo das soluções de etanol e água (g/kg) em ratas adolescentes submetidas aos protocolos de separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) durante o período neonatal (n = 10-11/grupo). (A) Média do consumo total de etanol (g/kg). (B) Média do consumo da solução de etanol a 4% (g/kg). (C) Média do consumo da solução de etanol a 8% (g/kg). (D) Média do consumo de água (g/kg).....	63
Figura 19 – Média do consumo das soluções de etanol e água (g/kg) em ratos adultos submetidos aos protocolos de separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) durante o período neonatal (n = 10-11/grupo). (A) Média do consumo total de etanol (g/kg). (B) Média do consumo da solução de etanol a 4% (g/kg). (C) Média do consumo da solução de etanol a 8% (g/kg). (D) Média do consumo de água (g/kg).....	64

Figura 20 – Média do consumo das soluções de etanol e água (g/kg) em ratas adultas submetidas aos protocolos de separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) durante o período neonatal (n = 10-11/grupo). (A) Média do consumo total de etanol (g/kg). (B) Média do consumo da solução de etanol a 4% (g/kg). (C) Média do consumo da solução de etanol a 8% (g/kg). (D) Média do consumo de água (g/kg).....	65
Figura 21 – Efeitos da exposição à separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a indução da preferência condicionada por lugar (PCL) ao etanol em ratos adolescentes (n = 10-11/grupo). (A) Efeito da dose de 0,5 g/kg de etanol sobre a indução da PCL. (B) Efeito da dose de 1,0 g/kg de etanol sobre a indução da PCL.....	66
Figura 22 – Efeitos da exposição à separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a indução da preferência condicionada por lugar (PCL) ao etanol em ratas adolescentes (n = 10-11/grupo). (A) Efeito da dose de 0,5 g/kg de etanol sobre a indução da PCL. (B) Efeito da dose de 1,0 g/kg de etanol sobre a indução da PCL.....	67
Figura 23 – Efeitos da exposição à separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a indução da preferência condicionada por lugar (PCL) ao etanol em ratos adultos (n = 10-11/grupo). (A) Efeito da dose de 0,5 g/kg de etanol sobre a indução da PCL. (B) Efeito da dose de 1,0 g/kg de etanol sobre a indução da PCL.....	69
Figura 24 – Efeitos da exposição à separação materna breve (SM 15) e prolongada (SM 180) sobre a indução da preferência condicionada por lugar (PCL) ao etanol em ratas adultas (n = 10-11/grupo). (A) Efeito da dose de 0,5 g/kg de etanol sobre a indução da PCL. (B) Efeito da dose de 1,0 g/kg de etanol sobre a indução da PCL.....	70

## LISTA DE TABELAS

---

Quadro 1 – Critérios diagnósticos dos transtornos relacionados ao uso de etanol DSM – V.....	27
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

5-HT – Serotonina  
ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico (*Adrenocorticotropic hormone*)  
ANOVA – Análise de variância  
ATV – Área tegmental ventral  
BP – Beber pesado  
BPE - Beber pesado episódico  
Ca<sup>2+</sup> - Cálcio  
CEBRID – Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas  
Cl<sup>-</sup> - Cloreto  
CORT - Corticosterona  
CRH – Hormônio liberador de corticotrofina  
CRH-R1 – Receptor do hormônio liberador de corticotrofina  
DA – Dopamina  
DSM – Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais  
GABA – Ácido gama-aminobutírico  
GC – Glicocorticoide  
GR – Receptor de glicocorticoide  
HHA – Hipotálamo-hipófise-adrenal  
i.p. – Intraperitoneal  
K<sup>+</sup> - Potássio  
LCE – Labirinto em cruz elevado  
MR – Receptor de mineralocorticoide  
NAc – Núcleo accumbens  
NMDA – N-metil D-aspartato  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
PCL – Preferência condicionada por lugar  
PVN – Núcleo paraventricular  
SENAD – Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas  
SNS – Sistema Nervoso Simpático

WHO –World Health Organization

A exposição ao estresse no início da vida pode influenciar de forma diferenciada a propensão ao consumo e à exibição de comportamentos relacionados à dependência ao etanol. Entretanto, não há consenso na literatura se estas diferenças são influenciadas pelo sexo e idade. Assim, este estudo investigou os efeitos da exposição à separação materna sobre o consumo e a preferência condicionada por lugar (PCL) ao etanol em ratos adolescentes e adultos, machos e fêmeas. Para tanto, ratas Wistar prenhes (n = 32) foram distribuídas em três grupos experimentais: controle, separação materna breve e prolongada. Após o nascimento, os filhotes dos grupos separação materna foram mantidos afastados de suas mães nos dias pós-natais (DPN) 2 ao 10, uma vez ao dia, por 15 e 180 minutos, respectivamente. Os filhotes do grupo controle não foram manipulados do DPN 2 ao DPN 21, a não ser para a limpeza das caixas. Quando os animais completaram 28 dias de idade (adolescentes), metade da ninhada de cada grupo foi avaliada nos testes do Labirinto em Cruz Elevado (LCE), consumo de etanol por livre escolha e preferência condicionada por lugar (PCL) ao etanol. A outra metade da ninhada foi avaliada nos mesmos testes, porém na idade adulta, ou seja, a partir dos 70 dias de vida. Os resultados mostraram que no teste do LCE não houve diferença nos parâmetros convencionais de ansiedade entre os animais dos grupos controle, separação materna breve e prolongada tanto em adolescentes e adultos, quanto em machos e fêmeas. Na análise do consumo total de etanol em animais adolescentes não foi observada diferença entre os grupos em ambos os sexos. Contudo, os machos adolescentes do grupo separação materna prolongada consumiram mais a solução de etanol a 4% em relação ao controle. Na idade adulta, o consumo total de etanol em machos do grupo separação materna prolongada foi maior quando comparado aos demais grupos. Adicionalmente, esses animais consumiram mais a solução de etanol a 8% do que os dos grupos controle e separação materna breve. Em relação às fêmeas adultas, foi observado que o consumo total de etanol em animais que foram separados de suas mães por períodos breves e prolongados foi maior em relação ao controle. No teste de preferência condicionada por lugar em animais adolescentes, verificou-se que a dose de 1,0 g/kg de etanol foi capaz de induzir PCL nos grupos separação materna prolongada de ambos os sexos. Na idade adulta, as doses de 0,5 g/kg e 1,0 g/kg de etanol induziram a PCL nos machos dos grupos separação materna breve e prolongada, respectivamente. Por outro lado, não foi observada indução da PCL com as doses de 0,5 g/kg e 1,0 g/kg de etanol nas fêmeas adultas. Em conjunto, os resultados mostraram que a exposição à separação materna breve e prolongada não induziu comportamentos relacionados a ansiedade nos animais. Entretanto, o protocolo de separação materna prolongada aumentou os efeitos reforçadores do etanol nos modelos de consumo e PCL, determinando diferenças nos comportamentos relacionados à dependência entre os adolescentes e adultos, machos e fêmeas.

**Palavras-chave:** Labirinto em cruz elevado. Consumo voluntário de etanol. Preferência condicionada por lugar. Estresse neonatal.

## ABSTRACT

---

Exposure to stress in early life can contribute differentially to consumption and behaviors related to ethanol addiction. However, there is no consensus in the literature whether such differences are influenced by sex and age. Thus, this study investigated the effects of exposure to maternal separation on consumption and conditioned place preference (CPP) to ethanol in both, male and female, adolescent and adult rats. Pregnant Wistar rats (n = 32) were divided into three experimental groups: control, short-term and long-term maternal separation. Separated rat pups were kept apart from their dams once a day from postnatal day (PND) 2 to 10 during 15 and 180 minutes, respectively. Control rat pups were not manipulated during PND 2 to PND 21, except when their cages were cleaned. At the age of PND 28 (adolescence), half of the litter of each group were evaluated in the elevated plus-maze, conditioned place preference (CPP) and voluntary ethanol consumption in a free-choice tests. The other half of the litter was evaluated in the same tests, but in adulthood, that is, from 70th postnatal day. There was no difference in conventional parameters of anxiety between the control, short-term and long-term maternal separation groups for both adolescents and adults, male and female rats. Adolescent rats of both sexes also showed no differences between groups. Adolescent males in the long-term maternal separation group consumed more the 4% ethanol solution than the rats from the control group. On the other hand, the total ethanol intake by adult males from the long-term maternal separation group was higher when compared to the other groups. In addition, these animals consumed more the 8% ethanol solution than other rats from control and short-term maternal separation groups. Total ethanol consumption by adult females that were separated from their dams for both brief and prolonged periods was also higher when compared to the control. CPP was detected in adolescent animals of both sexes from the long-term maternal separation group at a dose of 1.0 g/kg. In adulthood, the doses 0.5 g/kg and 1.0 g/kg ethanol induced CPP in male rats from both short and long-term maternal separation groups, respectively. Conversely, induction of CPP at doses of 0.5 g/kg and 1.0 g/kg ethanol was not detected in adult females. Taken together, these results showed that exposure to maternal separation, either brief or prolonged, did not induce behavioral symptoms of anxiety in animals. However, the protocol of prolonged maternal separation increased the reinforcing effects of ethanol in the models of consumption and PCL, determining differences in behaviors related to dependence between adolescent and adult, male and female rats.

**Key words:** Elevated plus maze. Voluntary consumption of ethanol. Conditioned Place Preference. Neonatal stress.

## *1.1 O consumo de etanol*

O etanol é uma substância psicoativa amplamente utilizada em muitas culturas ao longo dos séculos (CEBRID, 2013; WHO, 2014). Os registros históricos revelam que ele sempre esteve presente na sociedade e era utilizado de várias maneiras, como na preparação de remédios, perfumes e, principalmente, sendo um elemento fundamental de bebidas que estavam presentes em rituais religiosos e confraternizações (CEBRID, 2013; GIGLIOTTI; ANTONIO, 2004). A princípio, as bebidas que eram consumidas derivavam do processo de fermentação de açúcares, como a cerveja e o vinho, e continham teor alcoólico relativamente baixo. Posteriormente, com o surgimento do processo de destilação, começou a produção de bebidas com teor alcoólico mais elevado. Nessa época, as bebidas destiladas eram utilizadas amplamente com propósitos médicos, pois causavam relaxamento e sensação de bem-estar mais rápido que as bebidas fermentadas, e auxiliavam no alívio da dor (BELTRAN, 1996; CEBRID, 2013; VALLEE, 1998). Mas foi durante a Revolução Industrial, com a expansão da produção e comercialização de bebidas, que houve um aumento considerável no consumo de etanol pela população, o que passou a ser visto como uma desordem de saúde (CEBRID, 2013).

Embora fosse uma substância bem aceita pela sociedade, o consumo abusivo de etanol começou a ser considerado um problema social crescente. Dessa forma, o etilismo foi reconhecido como doença pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1951 e, em 1952, foi considerado uma psicopatologia pela Associação Psiquiátrica Americanam. No ano de 1994, a primeira edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-I) incluiu o etilismo como doença (APA, 1994). De acordo com a OMS, o etilismo é uma doença caracterizada pela ingestão exacerbada de bebidas alcoólicas, que provoca no usuário uma série de distúrbios mentais, comportamentais e físicos, podendo se instalar um quadro de dependência (WHO, 2014).

Nas últimas décadas a prevalência mundial de uso de substâncias psicoativas, lícitas e ilícitas, está aumentando (WAGNER; ANDRADE, 2008; WHO, 2016). De

acordo com o levantamento realizado pela Organização Mundial de Saúde, o etanol é a substância mais consumida mundialmente (WHO, 2016). Estima-se que anualmente 2,3 bilhões de pessoas consumam bebidas alcoólicas em todo mundo, e a tendência é que esse consumo cresça nos próximos 10 anos (WHO, 2018). Além disso, aproximadamente 12% da população global fazem uso de etanol diariamente (UNODC, 2012; WHO, 2012).

No Brasil, esse cenário não é diferente. Entre os anos de 2006 e 2012, o Instituto Nacional de Políticas Públicas do Etanol e Outras Drogas (INPAD) mostrou que a taxa de consumidores frequentes, ou seja, que bebem pelo menos uma vez por semana, aumentou de 45 para 54% (LENAD, 2012). E de acordo com o II Levantamento Domiciliar Sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas, realizado pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), cerca de 74,6% da população entrevistada relataram que já consumiram bebida alcoólica durante a vida (CARLINI, 2005).

O consumo de etanol durante a adolescência também é crescente. Cerca de 27% de todos os jovens do mundo, de 15 a 19 anos, consomem etanol com frequência. Ademais, pesquisas realizadas em escolas de vários países revelam que o consumo de etanol inicia antes dos 15 anos, com poucas diferenças entre os sexos (WHO, 2018). No Brasil, de acordo com o VI Levantamento Nacional Sobre o Consumo de Drogas Psicotrópicas realizado pelo CEBRID em parceria com a Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD), em 2010, aproximadamente 23,5% dos escolares dos ensinos fundamental e médio de 27 capitais brasileiras utilizaram drogas, sendo que o consumo de etanol foi citado por 42,4% dos estudantes entre 10 a 19 anos, com predomínio da faixa etária de 13 a 15 anos (SENAD, 2010). Esses dados são considerados alarmantes, uma vez que pesquisas clínicas apontam que o uso de etanol durante a adolescência aumenta o risco de desenvolvimento de problemas relacionados ao uso abusivo e dependência a essa substância na idade adulta (PASCUAL et al., 2012).

Em relação à diferença entre os sexos, o etilismo sempre foi considerado um transtorno que acomete mais os homens. Na maior parte dos casos, os homens são quase duas vezes mais propensos a desenvolver problemas com o uso abusivo do etanol em relação as mulheres. Contudo, o número de mulheres com problemas relacionados a essa patologia vem crescendo. Nos Estados Unidos, estudos mostram que entre os anos de 2000 a 2015, houve um crescimento de 57% nas mortes

causadas por cirrose entre mulheres de 45 a 64 anos, enquanto nos homens da mesma idade esse percentual foi de 21%. No entanto, quando considerados os indivíduos mais jovens (25 a 44 anos), as mulheres apresentaram aumento de 18% na taxa de mortalidade por cirrose, enquanto nos homens houve uma redução de 10% (WHO, 2018).

O crescimento do consumo de etanol em todo mundo pode estar relacionado às propriedades ansiolíticas que essa substância possui (POHORECKY, 1981; SPANAGEL et al., 1995). O etanol em pequenas doses pode reduzir os níveis de ansiedade, diminuir a tensão, proporcionar relaxamento e bom humor, o que contribui para a motivação e manutenção do uso (HECKMANN; SILVEIRA, 2009; KUSHNER et al., 1990). Além disso, pequenas doses também podem diminuir os reflexos físicos e redução da percepção cognitiva. Todavia, em doses elevadas, o etanol pode causar prejuízos à saúde, comprometer capacidades individuais como discernimento de tomada de decisões, incoordenação motora, diminuição da velocidade dos reflexos, instabilidade emocional, perda da consciência e até a morte (HECKMANN; SILVEIRA, 2009).

Além dos danos causados ao usuário, a OMS destaca que o consumo abusivo do etanol gera prejuízos para a saúde global e alerta os países da importância de se combater o uso abusivo dessa substância para evitar as consequências nocivas à sociedade (WHO, 2018). Nesse contexto, cerca de três milhões de mortes, em 2016, foram atribuídas total ou parcialmente ao uso abusivo do etanol, o que representa uma mortalidade maior do que a verificada em doenças como HIV/AIDS, diabetes e tuberculose (WHO, 2018). Entre os jovens, estima-se que 13,5% de todas as mortes no mundo ocorridas entre 20 a 29 anos de idade sejam atribuídas ao etanol. No Brasil, os acidentes de trânsito são a principal causa de morte entre os adolescentes do sexo masculino e cerca de 78% das colisões fatais apresentam associação com o consumo de etanol (WHO, 2018).

Ademais, o consumo abusivo de etanol está associado ao aumento da incidência de várias doenças, como o desenvolvimento de cirrose hepática, câncer, dependência etílica e outros problemas de saúde, comprometendo principalmente as faixas etárias entre 20-49 anos (BAAN et al., 2007; SHIELD; PARRY; REHM, 2013; WHO, 2014). No Brasil, no ano de 2012, o consumo de etanol esteve associado a 61,5% dos índices de cirrose hepática e a 11,5% dos acidentes de trânsito (WHO, 2014). Neste cenário, o consumo abusivo de bebidas alcoólicas é

considerado um problema de saúde pública devido aos seus impactos sociais, econômicos e, sobretudo, aos riscos que oferece à saúde dos usuários (WHO, 2016).

## *1.2 Padrão de consumo*

O padrão de consumo de etanol é determinado tanto por aspectos psicossociais quanto clínicos. A OMS estabelece que o consumo aceitável dessa substância, a fim de se evitar os efeitos mais nocivos dela, compreende até 15 doses por semana para os homens e 10 doses por semana para as mulheres, sendo que uma dose equivale a aproximadamente 350 mL de cerveja, 150 mL de vinho ou 40 mL de uma bebida destilada, ou 10 a 15 g de etanol. A média do consumo diário de pessoas que bebem etanol é de 33 g de etanol puro, o equivalente a dois copos (300 mL) de vinho, uma garrafa de cerveja (750 mL) ou dois *shots* de bebida destilada (cada um de 40 mL) (WHO, 2018). O teor alcoólico de uma bebida é expresso pela porcentagem de etanol absoluto (puro) presente nela e a quantidade percentual de etanol contida em um líquido pode ser calculada em teor volumétrico (mL ou L) ou em massa (g ou kg) (WHO, 2011).

Definir o limite entre o uso moderado, abusivo e a dependência etílica (Síndrome de dependência do etanol) é algo complexo, pois as diferenças são tênues e podem variar de acordo com a cultura e o organismo de cada indivíduo (NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002). As principais classificações do padrão de consumo de etanol são o uso moderado, o beber pesado (BP) e o beber pesado episódico (BPE) ou “*binge drinking*” (NIAAA, 2005). De acordo com o *National Institute on Alcohol and Alcoholism* (NIAAA), o uso moderado é caracterizado quando ocorre o consumo de até quatro doses em um único dia ou até 14 doses por semana por homens e até três doses em um único dia ou até sete doses por semana por mulheres. Em contrapartida, o padrão de beber pesado ou consumo BP ocorre quando o consumo excede a dose diária (quatro doses para homens e três doses para mulheres) ou semanal (14 doses para homens e sete para mulheres), como determinado no uso moderado. Por outro lado, o beber pesado episódico (BPE) ou “*binge drinking*” é o termo empregado para definir o consumo de doses elevadas de etanol em um curto período de tempo (duas horas aproximadamente). Corresponde a cinco ou mais doses de bebidas alcoólicas por homens e quatro ou mais doses por mulheres, atingindo uma alta concentração plasmática de etanol (cerca de 0,08 g/dL)

pelo menos uma vez nas últimas duas semanas (NIAAA, 2005). Um levantamento realizado com a população brasileira mostrou que 29% da população consomem em média cinco doses cada vez que sai para beber, o que é classificado como consumo em “*binge*” ou beber pesado (BP). De modo geral, homens consomem uma dose a mais que as mulheres (SENAD, 2007).

A maior parte das pessoas consome bebidas alcoólicas de forma moderada. Entretanto, o hábito de “beber pesado” tem aumentado tanto em homens quanto em mulheres. Vários estudos clínicos e em modelos animais têm revelado que o padrão de consumo em *binge* pode aumentar o risco de desenvolvimento de dependência devido a diversos fatores, tais como: mudanças estruturais e fisiológicas no encéfalo, distúrbios no sistema de resposta ao estresse, além de prejuízos cognitivos (CAMPANELLA et al., 2013; CIPPITELLI et al., 2012; CREGO et al., 2010; FIELD; SCHOENMAKERS; WIERS, 2008; GILPIN; KARANIKAS; RICHARDSON, 2012; LIU et al., 2011; MAURAGE et al., 2012; PARADA et al., 2012; PETIT et al., 2013; SMITH et al., 2008; STEPHENS; DUKA, 2008; STOCK; BESTE, 2013). Dessa forma, os problemas relacionados com esse padrão de consumo têm sido cada vez mais comuns, inclusive em pessoas que não possuem diagnóstico de dependência etílica (COSTA et al., 2004). De acordo com o II Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas realizado pelo CEBRID, no Brasil, houve aumento de dependentes ao etanol, de 11,2% em 2001 para 12,3% em 2005 (CARLINI, 2005). Dados divulgados pelo I Levantamento nacional sobre os padrões de consumo de etanol na população brasileira da Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD), revelam que 52% dos brasileiros acima de 18 anos beberam pelo menos uma vez ao ano e destes, 60% dos homens e 33% das mulheres consumiram cinco ou mais doses na vez em que mais beberam no último ano, que foi o da realização da pesquisa (SENAD, 2007).

Em 2010, 38% da população mundial de 15 anos ou mais, haviam consumido etanol nos últimos 12 meses, e destes, 16% estavam relacionados ao beber pesado episódico, ingerindo em média 17,2 L de etanol puro por ano (WHO, 2016). Entretanto, dados mais recentes mostram que o consumo mundial de etanol no ano de 2016 foi de 6,4 litros por pessoa de idade igual ou superior a 15 anos, mantendo-se estável desde o ano de 2010 (WHO, 2018). No Brasil, a média de consumo *per capita* foi superior à média mundial no ano de 2010, correspondendo a aproximadamente 8,7 litros, e entre consumidores crônicos esse valor aumentou para

15,1 litros (WHO, 2016). Ainda no Brasil, os dados mais recentes da OMS mostraram que o consumo se mantém elevado e representa cerca de 7,8 litros de etanol por pessoa de idade igual ou superior a 15 anos (WHO, 2018).

### *1.3 Síndrome de dependência ao etanol*

Todas as substâncias de uso abusivo, incluindo o etanol, possuem efeitos reforçadores positivos, ou seja, influenciam no comportamento do indivíduo motivando-o a consumir cada vez mais. O consumo agudo de etanol é capaz de atear o equilíbrio neuroquímico, enquanto o uso prolongado é capaz de promover neuroadaptações para compensar os efeitos dessa substância sobre o sistema nervoso central (SNC) (PEREIRA; OLIVEIRA, 1998; REHM et al., 2009). Essas neuroadaptações são responsáveis por desencadear a tolerância ao etanol. Para desenvolver esse quadro clínico, é necessário consumir doses cada vez maiores dessa substância para experimentar os efeitos hedônicos promovidos pelos efeitos reforçadores positivos do etanol. Assim, ao aumentar o consumo, indivíduos podem desenvolver a síndrome de dependência (PEREIRA; OLIVEIRA, 1998; REHM et al., 2009).

A dependência a substâncias psicoativas é definida pelo Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais (DSM-V) como um transtorno caracterizado por um conjunto de sintomas cognitivos, comportamentais e fisiológicos que indicam que o indivíduo perdeu o controle do uso de determinada substância e continua a usá-la apesar de conhecer seus malefícios (Quadro 1) (APA, 2014). Além disso, a dependência está associada a um sofrimento expressivo por parte do usuário, pois compromete as suas atividades sociais e profissionais, geralmente em decorrência de algum tipo de desvio de comportamento (APA, 2014).

Quadro 1 - Critérios diagnósticos dos transtornos relacionados ao uso de etanol segundo DSM-V.

Um padrão mal adaptativo de uso de etanol leva a prejuízo ou sofrimento clinicamente significativo e é manifestado por dois ou mais dos seguintes critérios, ocorrendo a qualquer momento no mesmo período de 12 meses:
<b>Perda de controle</b>
1) Uso em quantidades maiores e por um período maior de tempo
2) Desejo de diminuir ou regular ou esforços mal sucedidos
3) Tempo gasto para obter a bebida, e tempo gasto para se recuperar dos seus efeitos
4) Fissura, desejo intenso ou urgência em consumir (“ <i>craving</i> ”)
<b>Prejuízo social</b>
5) Falha em cumprir obrigações relativas ao seu papel no trabalho, em casa ou na escola.
6) O uso de etanol continua, apesar dos problemas sociais ou interpessoais causados pelos seus efeitos
7) Redução das atividades sociais, ocupacionais ou recreativas em virtude do seu uso
<b>Uso de risco</b>
8) Uso recorrente em situações as quais isso representa risco físico
9) O uso continua, apesar da consciência de ter problemas físicos e psicológicos
<b>Tolerância, definida por qualquer um dos aspectos seguintes:</b>
10) Necessidade de quantidades cada vez maiores para adquirir o efeito desejado
11) Redução significativa dos efeitos com o uso continuado com a mesma quantidade
<b>Abstinência, definida por qualquer um dos seguintes aspectos:</b>
12) Conjunto de sintomas físicos e sinais psíquicos que aparecem após a interrupção repentina do uso do etanol
13) A busca do consumo do etanol para aliviar ou evitar sintomas da abstinência
A classificação da gravidade do transtorno baseia-se na quantidade de critérios acima identificados no indivíduo:
<b>Leve:</b> presença de 2 a 3 sintomas
<b>Moderada:</b> presença de 4 a 5 sintomas
<b>Grave:</b> presença de 6 ou mais sintomas

Fonte: Adaptado do Centro de Informações sobre Saúde e Etanol (2014).  
Disponível em: <http://www.cisa.org.br/artigo/4010/-que-alcoolismo.php>

Os indivíduos dependentes, além de apresentarem perda do controle sobre o consumo, vivenciam estados emocionais negativos, como por exemplo, mal-estar, irritabilidade e ansiedade quando o acesso à substância psicoativa é impedido. Nesta

condição, instala-se o quadro conhecido como síndrome de abstinência (APA, 2014). A síndrome de abstinência ao etanol é considerada como sendo um conjunto de sinais e sintomas que aparecem após a interrupção súbita do uso constante e prolongado dessa substância. Dependendo do tempo e da quantidade da última dose consumida, varia a intensidade e a maneira como a síndrome se desenvolve. Na maioria dos casos, seis horas após a redução ou interrupção do uso de etanol começam a aparecer os primeiros sintomas (LARANJEIRA et al., 2000). Na síndrome da abstinência os indivíduos podem apresentar sintomas físicos como náuseas, tremores, vômitos, sudorese, câibras, taquicardia e queda súbita da pressão arterial. Esses sintomas físicos geralmente são acompanhados de sinais psíquicos, por exemplo, alterações no humor, depressão, insônia, irritabilidade, hiperatividade e ansiedade (HECKMANN; SILVEIRA, 2009).

A dependência foi reconhecida como uma patologia a partir de estudos que investigavam os mecanismos neuronais envolvidos nesta condição clínica (DACKIS; O'BRIEN, 2005). Várias teorias foram propostas a fim de explicar os mecanismos neurobiológicos da dependência a substâncias de uso abusivo, e apesar de apresentarem abordagens distintas, elas se complementam, ajudando a compreender melhor os aspectos da doença. A primeira delas, a teoria do reforço negativo postulava que indivíduos dependentes mantinham o uso dessas substâncias com o propósito de aliviar os sintomas desagradáveis causados pela síndrome de abstinência (WISE; BOZARTH, 1987). Entretanto, essa teoria apresentou algumas limitações, pois os pesquisadores observaram que a busca pela droga ocorria mesmo na ausência da síndrome de abstinência, e substâncias que causavam esta síndrome nem sempre induziam a dependência. Além disso, o alívio dos sintomas da síndrome de abstinência não era eficaz no tratamento da dependência, havendo grande propensão à recaída mesmo após longos períodos sem a síndrome (WISE; BOZARTH, 1987).

Devido às limitações da teoria do reforço negativo, Wise e Bozarth (1987) propuseram a teoria do reforço positivo. De acordo com essa teoria, o uso de substâncias de uso abusivo é mantido pelo fato de promover efeitos hedônicos (bem-estar, euforia), o que estimula o indivíduo a consumi-la cada vez mais. Vários estudos indicam que o efeito reforçador positivo das substâncias de uso abusivo está associado com a ativação do sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (KOOB; LE MOAL, 2001; WISE; BOZARTH, 1987). Quando esse sistema é ativado,

promove o aumento da liberação de dopamina (DA) no núcleo acumbens (NAc), o que proporciona sensações hedônicas ao indivíduo (WISE; BOZARTH, 1978). A teoria do reforço positivo trouxe importantes contribuições acerca das substâncias psicoativas que causam dependência. Foi verificado que apesar dessas substâncias possuírem estruturas químicas diversificadas e se ligarem a diferentes tipos de receptores para promoverem efeitos diversos, elas possuem em comum o fato de atuarem sobre o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (WISE, 1987). A partir dessa descoberta, esse sistema passou a ser base dos estudos neurais da farmacodependência (KOOB; LE MOAL, 2001; NESTLER, 2001).

Todavia, a teoria do reforço positivo não explica a conexão existente entre o potencial da substância em provocar sensações subjetivas de prazer e sua capacidade de desenvolver a dependência. Outros pontos que não são explicados de forma satisfatória incluem a fissura (desejo intenso) e a recaída causada pela exposição a ambientes que o indivíduo associa ao uso da droga (ROBINSON; BERRIDGE, 1993). Além disso, essa teoria não explica uma das características principais da doença, que é a perda do controle do uso da droga, mesmo sofrendo as consequências dos efeitos adversos em detrimento do seu uso (O'BRIEN, 1992).

Diante dessas limitações alguns estudos propuseram que o uso compulsivo das substâncias psicoativas que causam dependência seria decorrente de neuroadaptações provocadas por seu uso frequente (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2003). O uso abusivo de substâncias provocaria aumento na sensibilização das vias neurais que são responsáveis por controlar os estímulos motivacionais. Essa sensibilização promoveria então, o aumento da responsividade a um estímulo quando ele é apresentado várias vezes, deixando esses estímulos (uso da substância ou exposição a ambientes associados a ela) mais intensos, tornando a droga mais atrativa e desenvolvendo um desejo compulsivo (“fissura” ou “*craving*”). Assim, o comportamento de “fissura” seria responsável por promover a falta de controle sobre o uso da substância e provocar as recaídas (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2003).

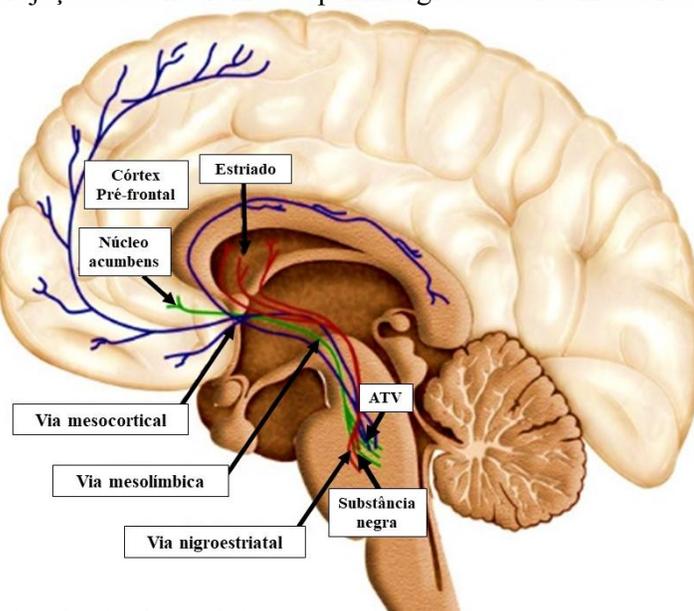
#### *1.4 Etanol e o sistema de recompensa*

O consumo de etanol gera diversos efeitos comportamentais pelo fato dessa substância ter a capacidade de atuar em diferentes regiões encefálicas e interagir com alguns sistemas de neurotransmissores como o dopaminérgico, glutamatérgico,

gabaérgico e serotoninérgico (ERDOZAIN; CALLADO, 2014). Vários estudos mostraram que o efeito reforçador positivo de substâncias psicoativas está relacionado à ativação do sistema dopaminérgico mesocorticolímbico ou sistema de recompensa (KOOB; LE MOAL, 1997; RUSSELL; MEHRABIAN, 1975; WISE; BOZARTH, 1987). O papel fisiológico desse sistema é estimular as ações essenciais para a sobrevivência de uma espécie, como comportamento sexual, que contribui com a perpetuação da espécie; o consumo de comida e água (HYMAN; MALENKA; NESTLER, 2006; KAUER; MALENKA, 2007; KOOB; LE MOAL, 2001). Além disso, a ativação desse sistema é fundamental para gerar os efeitos reforçadores iniciais das substâncias psicoativas, contribuindo para o desenvolvimento da dependência (HYMAN et al., 2006; KAUER; MALENKA, 2007; NESTLER, 2005).

O sistema dopaminérgico mesocorticolímbico é constituído por neurônios que se originam na área tegmental ventral (ATV) e se projetam até as áreas do córtex pré-frontal, NAc e outras estruturas do sistema límbico (amígdala e hipocampo) (Figura 1) (HYMAN et al., 2006; NESTLER, 2001). De maneira geral, o sistema dopaminérgico é responsável, entre outras funções, pelo comportamento emocional, coordenação motora, cognição, sensações hedônicas e regulação do impulso motivacional (GAINETDINOV et al., 1998; NESTLER, 2001; SHEN; LIAO; TSENG, 2012; VOLKOW et al., 1996).

Figura 1 - Representação de um corte sagital médio do encéfalo humano destacando as principais projeções dos neurônios dopaminérgicos do sistema de recompensa.



Fonte: Adaptado de Arias-Carrión et al (2010).

O etanol atua nas vias dopaminérgicas aumentando a liberação de DA pelos neurônios da ATV, elevando assim, a concentração desse neurotransmissor no NAc, ativando o sistema de recompensa (NESTLER, 2005; WEISS; PORRINO, 2002). Todavia, estudos mostram que a administração aguda de etanol pode estimular a atividade de peptídeos opióides endógenos, principalmente as  $\beta$ -endorfinas, que por sua vez modulam o sistema dopaminérgico, ativando receptores específicos ( $\mu$ ) em interneurônios GABAérgicos, impedindo a ação inibitória do neurotransmissor GABA (ácido gama-aminobutírico) sobre a ATV, aumentando assim, a liberação de DA no NAc (BIENKOWSKI et al., 1999; FROELICH; LI, 1994; GIANOULAKIS et al., 1996; MARINELLI et al., 2003; OLIVE et al., 2001). Assim, o sistema opioidérgico parece ser primordial na região da concha do NAc, intensificando as respostas do sistema dopaminérgico, gerando respostas hedônicas induzidas por drogas de uso abusivo, ativando o sistema de recompensa (PECIÑA; BERRIGE, 2005). Além disso, o etanol, como outras substâncias psicoativas, pode reduzir ou bloquear os transportadores de DA, aumentando sua disponibilidade no encéfalo (SHEN; LIAO; TSENG, 2012; VOLKOW et al., 1996).

Pesquisas mostram que animais expostos a eventos estressores no início da vida, como por exemplo, à separação materna prolongada, podem apresentar disfunção no sistema opioidérgico. Como esse sistema está envolvido nas respostas do sistema dopaminérgico, pode alterar a sinalização de DA e opióides endógenos em outras regiões como o córtex pré-frontal e o NAc, acentuando a resposta ao etanol e contribuindo para o aumento do risco de desenvolver o consumo abusivo dessa substância na idade adulta (HUOT et al., 2001; MEANEY et al., 2002; PLOJ et al., 2000; PLOJ; ROMAN et al., 2004; ROMAN; NYLANDER, 2003).

Quando consumidores crônicos são privados de ingerir bebidas alcoólicas, também podem apresentar algumas alterações adaptativas na atividade dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal, outra via encefálica importante na dependência. Como resposta homeostática, há uma sensibilização dessa via gerando uma diminuição na atividade dos neurônios dopaminérgicos na ATV e redução da concentração de DA no NAc (DIANA et al., 1992; KOOB; LE MOAL, 2001; NESTLER, 2005; WEISS et al., 1996). Essa baixa atividade do sistema dopaminérgico é fundamental para a manutenção do quadro de dependência, motivando o indivíduo a ingerir mais etanol para compensar a queda na concentração de DA (WEISS; PORRINO, 2002).

Além da DA existem outros neurotransmissores estão relacionados às ações reforçadoras do etanol e de outras substâncias psicoativas, entre eles o ácido gama-aminobutírico (GABA), o glutamato e a serotonina. O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC e também está envolvido nos efeitos reforçadores positivos do etanol. As principais respostas desencadeadas por esse neurotransmissor ocorrem quando ele se liga a receptores do tipo GABA<sub>A</sub> e promove o influxo de íons cloreto (Cl<sup>-</sup>). Após a ingestão do etanol, os níveis de ansiedade e tensão diminuem rapidamente, assim como a percepção do estresse (KUSHNER et al., 1990). Outro efeito do consumo abusivo de etanol está associado à diminuição da densidade de receptores GABA<sub>A</sub> no SNC (GOLOVKO et al., 2002).

O sistema glutamatérgico também é modulado pelo etanol. O glutamato é um dos principais neurotransmissores excitatórios do SNC em mamíferos e é responsável por diversas funções como memória, aprendizado, cognição e neuroplasticidade (DANBOLT, 2001; OZAWA et al., 1998; XU, SMOTHERS; WOODWARD, 2011). Esse neurotransmissor atua em regiões encefálicas que estão relacionadas à expressão/modulação de estados emocionais, como o medo e a ansiedade incondicionados (BRANDÃO et al., 2005). O etanol atua como antagonista nesse sistema, se ligando a receptores glutamatérgicos ionotrópicos do tipo N-metil-D-apartato (NMDA), que está associado a canais iônicos permeáveis ao potássio (K<sup>+</sup>), cálcio (Ca<sup>2+</sup>) e ao sódio (Na<sup>+</sup>) (CARBONI et al., 1993; TRAYNELIS et al., 2010). Dessa forma, o uso crônico do etanol bloqueia os receptores de NMDA desencadeando respostas neuroadaptativas como a regulação positiva desse receptor, aumentando sua densidade, o que intensifica sua ação (DODD et al., 2000; FADDA; ROSSETTI, 1998; ROSSETTI; CARBONI, 1995). Estudos em modelos animais indicam que após a retirada do etanol, o aumento na densidade desses receptores ainda dura cerca de 36 horas, e durante esse período pode ocorrer o surgimento de crises convulsivas resultantes da hiperatividade do sistema glutamatérgico (LARANJEIRA et al., 2000).

O sistema serotoninérgico também está envolvido nos efeitos reforçadores do etanol. A serotonina (5-HT) desempenha um papel chave na modulação de algumas funções do SNC e está associada a distúrbios psíquicas, ao sistema de recompensa, estímulos hedônicos e à “fissura” por substâncias psicoativas (GINGRICH; HEN, 2001). O consumo crônico de etanol intensifica a liberação de 5-HT no NAc. Além disso, existem evidências de que o consumo crônico de etanol

causa alterações adaptativas nos neurônios serotoninérgicos semelhante às que ocorrem no sistema dopaminérgico (ERDOZAIN; CALLADO, 2014; YOSHIMOTO et al., 1991).

### *1.5 Estresse e dependência*

Existem diversos fatores ambientais que podem aumentar a vulnerabilidade à dependência de substâncias psicoativas, mas o estresse é um dos mais importantes deles. Frequentemente indivíduos que são dependentes relatam que a exposição a eventos estressores e estados negativos de humor contribuem para o início, permanência e recaída do uso de substâncias psicoativas (GOEDERS, 2003; SINHA, 2001). Muitos indivíduos experimentam substâncias psicoativas por períodos variáveis de tempo, mas somente alguns desenvolvem a dependência. Isso indica que alguns fatores podem influenciar na progressão para o uso compulsivo dessas substâncias (ROBINSON; BERRIDGE, 2003). Assim, existem evidências de que o consumo precoce e o desenvolvimento de problemas relacionados ao uso abusivo do etanol em humanos estão associados à exposição ao estresse (KAUFMAN et al., 2007). Ademais, roedores expostos a um evento de estresse agudo podem desenvolver sintomas da síndrome de abstinência após a administração crônica de etanol ser suspensa (VALDEZ et al., 2002). A exposição ao estresse no início da vida, por exemplo, está relacionada ao aumento do risco de desenvolver dependência a substâncias psicoativas tanto em humanos (ENOCH, 2011) quanto em animais (MEANEY et al., 2002; ROMAN; NYLANDER, 2005).

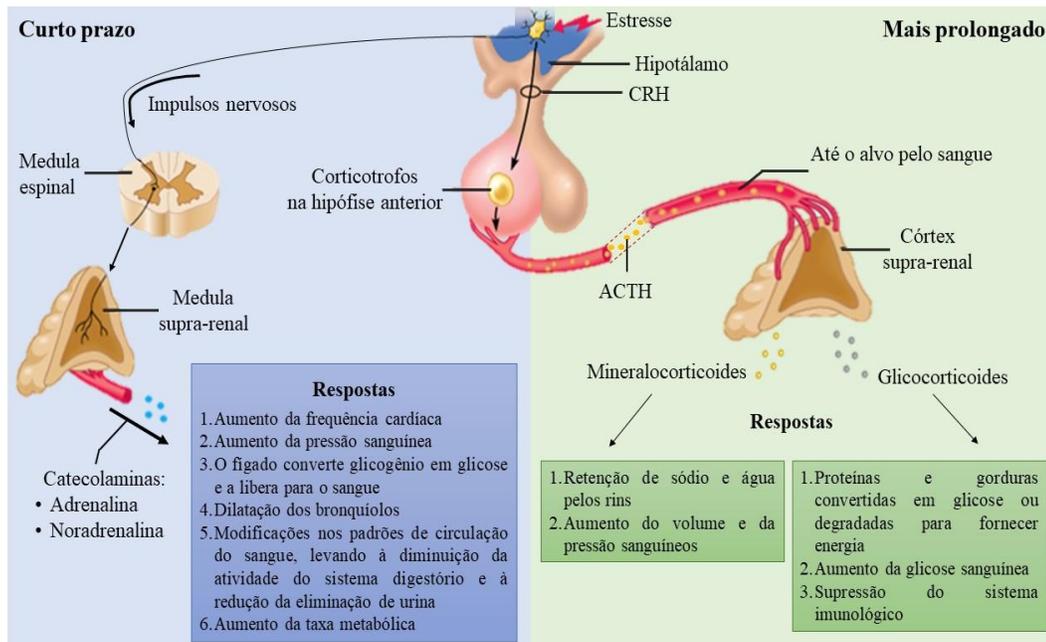
Pelo fato de o etanol possuir efeito ansiolítico e depressor do SNC, sugere-se que o comportamento de ingerir bebidas alcoólicas seja uma forma que alguns indivíduos utilizam para tentar aliviar o estresse (POHORECKY, 1990; VENGELIENE et al., 2003). Entretanto, existe uma relação complexa entre a exposição a eventos estressores e o consumo de etanol, tanto em modelos animais quanto em humanos, não havendo um consenso claro no meio científico de como o estresse influencia o consumo (BECKER et al., 2011). Além disso, as pesquisas realizadas em modelos animais e em humanos revelam que eventos estressantes desencadeiam um aumento no consumo de etanol (COOPER et al., 1992; DE BELLIS, 2002; GOEDERS, 2003; KAUFMAN et al., 2007; KEYES et al., 2012; SODERPALM; WIT, 2002).

O médico e pesquisador Hans Selye foi o primeiro a definir o termo biológico estresse, caracterizando-o como um conjunto de respostas adaptativas de um organismo frente a agentes que ameaçam a sua integridade (SELYE, 1936). Além disso, estabeleceu o termo estressor para denominar o agente promotor do estresse, referindo-se a estímulos que são reconhecidos pelo organismo como de risco ou aversivo, gerando a resposta de estresse (SELYE, 1956). Posteriormente, outros pesquisadores associaram o termo estressor a estímulos que perturbam a homeostase do organismo, seja ele de ordem física, psíquica ou patológica, que são capazes de suscitar medo, ansiedade, euforia/disforia ou raiva, gerando uma resposta adaptativa frente a esses eventos adversos, provocando alterações fisiológicas e psicológicas (MCEWEN, 2002; SINHA, 2001, 2008).

As principais estruturas encefálicas envolvidas na resposta ao estresse fazem parte do sistema límbico e incluem o córtex pré-frontal, a amígdala, o hipocampo e o NAc, regiões encefálicas responsáveis por avaliar e processar informações sensoriais gerando respostas por meio do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA); e o *locus ceruleus* e suas projeções noradrenérgicas para o sistema nervoso simpático (SNS) (BANGASSER; VALENTINO, 2014; MELLO et al., 2003).

Tanto o eixo HHA e o SNS trabalham em sinergia. A divisão simpática do sistema nervoso autônomo libera catecolaminas, adrenalina pela medula da glândula adrenal e noradrenalina pelas terminações nervosas simpáticas. A liberação de noradrenalina pelo SNS prepara o organismo para uma reação de fuga ou luta por promover o aumento da pressão arterial, disponibilizar ácidos graxos facilitando a obtenção de energia para os órgãos vitais, e além disso, a noradrenalina estimula a secreção de glucagon, promovendo glicogenólise nos músculos e no fígado e inibe a secreção de insulina, aumentando a concentração de glicose na corrente sanguínea (HALTER; BEARD; PORTE, 1984). O glucagon também pode potencializar a liberação de catecolaminas e intensificar a secreção de glicocorticoides estimulando a liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH). Assim, o glucagon, de forma indireta pode aumentar a resposta aguda ao estresse (BERG et al., 2010; LAWRENCE, 1967; SVOBODA et al., 1994). Por outro lado, o eixo HHA induz a liberação de glicocorticoides pelo córtex da glândula adrenal (Figura 2) (DE KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005; DIEHL, 2009; MARCHETTE, 2013; MCEWEN, 1998; MUNCK; GUYRE; HOLBROOK, 1984).

Figura 2- Representação esquemática dos sistemas responsáveis pela resposta ao estresse.



Fonte: Adaptado de Marieb e Hoehn (2009).

Nota – As siglas CRH e ACTH representam hormônio liberador de corticotrofina e hormônio adrenocorticotrófico, respectivamente.

A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) é uma das principais vias de resposta a estímulos ambientais. A partir dela o organismo inicia uma série de respostas adaptativas que consistem em um grande conjunto de reações neuroendócrinas que visam restabelecer o equilíbrio que foi perturbado (CHROUSOS; GOLD, 1992; LÓPEZ et al., 1999). Em situações de estresse os neurônios do núcleo paraventricular (PVN) sintetizam e secretam o hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que estimula a hipófise anterior a liberar o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na corrente sanguínea. O ACTH, por sua vez, estimula o córtex das glândulas adrenais a secretar glicocorticoides (GC). Em humanos o principal glicocorticoide é o cortisol e em roedores é a corticosterona (DE KLOET et al., 2005).

Os GC podem atuar em dois tipos de receptores: os glicocorticoides (GR) e os mineralocorticoides (MR) (SAPOLSKY, 2000). Os receptores de GR se destacam por terem um papel importante no controle da atividade do eixo HHA. Os glicocorticoides se ligam a esses receptores e, por meio do mecanismo de controle de

retroalimentação negativa, diminuem a liberação de CRH pelo hipotálamo e de ACTH pela hipófise (SAPOLSKY, 2000).

O aumento da concentração de GC diminui a liberação de CRH pelo núcleo paraventricular do hipotálamo, porém induz a liberação de CRH na ATV, aumentando a concentração de DA em regiões do encéfalo que recebem as projeções da ATV. Esse efeito pode estar relacionado com a ativação dos receptores CRH-R1 que estão presentes nessa região (VAN PETT et al., 2000).

Além disso, os GC quando se ligam aos receptores GR localizados nos neurônios dopaminérgicos da ATV, aumentam a liberação de DA no NAc (HÄRFSTRAND et al., 1986; PIAZZA; LE MOAL, 1998). Pesquisas com modelos pré-clínicos e clínicos sobre epigenética evidenciam que a exposição precoce ao estresse, está associada com alterações específicas na expressão de receptores de glicocorticoides na região frontal do hipocampo (HOLMES et al., 2005; MURGATROYD; SPENGLER, 2011). Assim, a interação do CRH e/ou GC com seus receptores que estão localizados nas vias de recompensa resulta no aumento do DA no sistema mesocorticolímbico (CASTRO; ZIGMOND, 2001; DAZZI et al., 2001; TAKAHASHI et al., 1998).

Mas apesar de a ativação do eixo HHA ser considerada um mecanismo de resposta adaptativa às mudanças ambientais, estudos clínicos em humanos mostram que a secreção prolongada de cortisol pode resultar em respostas similares produzidas pelas catecolaminas no SNS, o que aumenta o risco de desenvolver diabetes, hipertensão e doença arterial. A ativação do eixo HHA também pode suprimir o sistema imune, que se persistir por um longo período, pode aumentar a vulnerabilidade do indivíduo a infecções. Ademais, um estudo realizado por Lupien et al. (2005), mostrou que os pacientes expostos por longo período a altas doses de glicocorticóides apresentaram uma redução de 14% no volume do hipocampo, demonstrando assim, efeitos neurotóxicos dos glicocorticoides. Assim, a exposição crônica a concentrações elevadas de glicocorticoides pode ser nociva para o organismo (DERIJK; STERNBERG, 1994; DHABHAR, 2009, LUPIEN et al., 2005).

Os estudos sugerem que tanto o GC quanto o CRH estão envolvidos no processo da dependência a substâncias de uso abusivo de formas diferentes, pois enquanto a liberação de GC oriundo da ativação do eixo HHA pode caracterizar o começo do uso, o CRH liberado em regiões extra hipotalâmicas, pode ser importante

no desenvolvimento do quadro de abstinência (KOOB et al., 1998). Dessa forma, eventos estressores podem ativar o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico por meio da atividade do CRH e GC na ATV (HAUGER et al., 2006; WANG et al., 2005).

Vale ressaltar que a existência de diferenças entre os sexos em relação ao uso abusivo de substâncias psicoativas parece estar relacionada ao fato de os hormônios sexuais influenciarem a responsividade do eixo HHA ao estresse. Alguns estudos mostram que a testosterona tem ação inibitória sobre o eixo HHA, enquanto o estrógeno tem efeito estimulatório, pois fêmeas liberam mais corticosterona (CORT) do que os machos em resposta ao estresse (RIVIER, 1993). Além disso, estudos mostram que as fêmeas são mais sensíveis a substâncias psicoativas, como o etanol, pelo fato de liberarem mais DA no NAc em resposta ao etanol em relação aos machos (BECKER; MOLEND; HUMMER, 2001; BLANCHARD et al., 1993).

### *1.6 Estresse neonatal*

A exposição a eventos estressores no início da vida tem sido destacada como um fator que contribui de forma significativa no desenvolvimento de psicopatologias e dependência a substâncias psicoativas (GOEDERS, 2003; SINHA, 2001). As experiências traumáticas e a exposição a ambientes adversos em períodos precoces da infância (CHAMPAGNE; DE KLOET; JOELS, 2009) podem induzir alterações comportamentais e neuroendócrinas na idade adulta, influenciando no aumento da vulnerabilidade ao uso abusivo de substâncias psicoativas tanto em humanos (DUBE et al., 2001; ENOCH, 2011; JOHNSON et al., 2002) quanto em animais (CHAMPAGNE; DE KLOET; JOELS, 2009; MEANEY et al., 2002; PLOTSKY et al., 2005; ROMAN; NYLANDER, 2005). Além disso, exposição precoce ao estresse pode induzir os animais à recaída no consumo de etanol (FUNK; LI; LÊ, 2006).

Nos primeiros dias de vida dos mamíferos o sistema nervoso ainda não completou o seu desenvolvimento e por isso encontra-se sensível a estímulos ambientais (LEVINE, 1957; KOEHL et al., 2002; NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002; SANCHEZ; LADD; PLOTSKY, 2001). Em roedores, a fase de maior plasticidade do SNC compreende as três primeiras semanas de vida, se estendendo até o fim da adolescência, por volta dos 42 dias de vida (MOLET et al.,

2014; SAPOLSKY; MEANEY, 1986; SPEAR, 2000). Em humanos o processo de maturação do encéfalo está parcialmente concluído ao nascimento, prosseguindo seu desenvolvimento até o final da adolescência, entre 12 a 18 anos (PACE et al., 2006; SHAMSEDDEEN et al., 2011; SPEAR, 2000). Neste contexto, a adolescência pode ser considerada uma fase vulnerável por se tratar de um período em que maturação do SNC ainda está ocorrendo (SPEAR; VARLINSKAYA, 2010; WITT, 2007) e o consumo de etanol nesse período pode aumentar o risco de desenvolver dependência etílica na idade adulta (GRANT; DAWSON, 1997).

A exposição ao estresse por um período prolongado no início da vida promove efeitos nocivos ao SNC (KRATZ, 2013; NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002, MILLER; O'CALLAGHAN, 2002; RENARD; RIVAROLA; SUÁREZ, 2007). Isso se deve ao fato de o estímulo estressor elevar a concentração plasmática de glicocorticoides e gerar efeitos severos sobre a formação do sistema nervoso, causando distúrbios na divisão neuronal, no desenvolvimento dos dendritos, no metabolismo neuronal, bem como na inibição do crescimento encefálico (MEANEY, et al., 1993; VAN DE KAR; BLAIR, 1999). Além disso, essas alterações podem estar relacionadas à desregulação dos sistemas neuroendócrino e imunológico em resposta a eventos adversos, o que causa efeitos neurotóxicos que afetam o desenvolvimento encefálico (ANDERSEN, 2003; GANGULY; BRENHOUSE, 2015; LUPIEN et al., 2009).

Existem mecanismos protetores e adaptativos que tendem a limitar a resposta ao estresse a fim de prevenir seus efeitos nocivos ao SNC. Nos primeiros dias de vida, o eixo HHA encontra-se quiescente. Essa fase é conhecida como período hiporresponsivo ao estresse (SHRP, do inglês *stress-hyporesponsive period*), pois o SNC ainda está imaturo (SMITH et al., 1997). Esse período compreende as três primeiras semanas de vida em ratos e até os três primeiros anos de vida em humanos (DE KLOET et al., 1986; SMITH et al., 1997). Portanto, durante o SHRP, o eixo HHA normalmente apresenta uma baixa responsividade ao estresse, isto é, pouca ou nenhuma resposta adrenocortical é observada frente a estímulos estressores a fim de manter a integridade das atividades encefálicas (DE KLOET et al., 1986).

### *1.7 Modelos animais de estresse neonatal*

O desenvolvimento adequado de muitas espécies depende da relação estável entre a mãe e os seus filhotes. Os estudos mostram uma importante interação entre a progenitora e a prole no início da vida, por ser a mãe a principal fonte de nutrição dos filhotes. No entanto, essa relação é um pouco mais complexa e vai além de suprir as necessidades nutricionais da prole. A mãe fornece estímulos térmicos e somatossensoriais como os olfatórios, visuais e auditivos, que são essenciais durante parte do desenvolvimento pós-natal. Dessa forma, qualquer deficiência destes cuidados durante esse período produz algumas alterações, tanto em animais quanto no ser humano, deixando o infante mais suscetível a doenças e problemas sociais na idade adulta (DE BELLIS et al., 1999; PRYCE; FELDON, 2003; TEICHER, 2000).

Para melhor compreender as consequências da separação materna sobre o comportamento e a reatividade ao estresse na adolescência e idade adulta tem-se utilizado modelos animais, principalmente com roedores (ANDERSEN; TEICHER, 2008; LEVINE et al., 2012; MOFFET et al., 2007; NYLANDER; ROMAN, 2013). Dentre estes modelos destacam-se o de separação materna breve e prolongada, que são utilizados como paradigmas experimentais de estresse psicossocial nos primeiros dias de vida (LIU et al., 1997, 2000).

De maneira geral, o modelo de separação materna breve, consiste na separação da mãe e dos filhotes por intervalos de 3 a 15 minutos nas primeiras duas semanas de vida (LEVINI, 1957; LEVINI; LEWIS, 1959; NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002; PRYCE; BETTSCHEN; FELDON, 2001). Esse breve período de separação é considerado uma forma branda e benéfica de estresse, pois no ambiente natural os roedores possuem o hábito regular de sair do ninho para forragear durante um período que pode durar de 10 minutos a uma hora, dependendo da idade dos filhotes (GROTA; ADER, 1969).

A exposição à separação materna breve tem sido associada à diminuição da responsividade do eixo HHA a eventos estressores na idade adulta, o que configura uma espécie de adaptação ao estresse (FERNÁNDEZ-TERUEL et al., 1991; MEANEY et al., 1991; NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002). Como resultado, os animais submetidos a este procedimento apresentam diminuição dos comportamentos de ansiedade, das respostas biológicas ao estresse e maior capacidade de lidar com eventos estressores ao longo da vida (COSTELA et al.,

1995; MEANEY et al., 1996). Estudos sugerem que essas respostas adaptativas estejam relacionadas ao aumento do cuidado materno que ocorre após breves períodos de separação da mãe de seus filhotes (NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002). Foi observado que as mães das ninhadas que passaram pelo procedimento de separação materna breve, ao retornarem ao ninho tendem a lambar mais seus filhotes em comparação às mães de filhotes que não passaram por qualquer procedimento de privação materna (DIEHL, 2009; PRYCE; BETTSCHEN; FELDON, 2001; RANA et al., 2015). É importante mencionar que em estudos de separação materna prolongado, o emprego de um grupo submetido à separação materna breve é frequentemente utilizado como um controle, pois estes animais simulam naturalmente as condições de criação, diferente dos grupos controle convencionais, que vivem em condições consideradas de empobrecimento ambiental, visto que a mãe permanece no ninho quase todo o período da lactação (HUOT et al., 2002).

Um dos cuidados maternos importantes para o desenvolvimento da ninhada é o ato de lambar os filhotes com frequência e posicionar a arcada dorsal sobre seus filhos como postura de nutrição e fornecimento de calor (CZÉH et al., 2015; MARCH, 2011; STERN; JOHNSON, 1990). Alguns estudos mostram que comportamento de lambar os filhotes no sentido anogenital pode inibir a secreção de ACTH, e a frequência da amamentação controla a concentração de corticosterona, mantendo-a reduzida (LEVINE, 2001; MEANEY, 1993). Dessa forma, experiências positivas no início da vida estão associadas ao desenvolvimento de uma resistência frente aos desafios durante a idade adulta, contribuindo para uma boa saúde física e mental (BALDINI et al., 2013). Exemplificando, os ratos submetidos ao procedimento de separação materna breve mostram baixo consumo voluntário de etanol, o que reflete uma resposta de adaptação ao estresse (HILAKIVI-CLARKE, 1991; NYLANDER; ROMAN, 2013; ROMAN et al., 2003, 2005). Além disso, estudos realizados com bebês prematuros ou recém-nascidos de baixo peso têm revelado que o contato direto e contínuo com as mães reduz a morbidade e mortalidade (CALDJI; DIORIO; MEANEY, 2000; CONDE-AGUDELO; BELIZÁN; DIAZ-ROSSELLO, 2012).

Existe uma diferença no impacto provocado por períodos breves (também descrito por alguns pesquisadores como manuseio neonatal) e prolongados de separação materna. O modelo de separação materna prolongada propriamente dito, consiste na separação dos filhotes da sua mãe por períodos mais longos que o tempo

de afastamento de seu habitat natural, o que pode variar de 60 minutos até 24 horas. Ademais, o protocolo também pode variar de uma separação única, geralmente de 24 horas, (LLORENTE et al., 2007; MARKOVIC et al., 2014; VIVEROS et al., 2010) a uma separação periódica durante o período pós-natal, que pode ser realizada nos primeiros 10, 14 ou 21 dias de vida (JAIME et al., 2016; MARCO et al., 2015; MARIN; CRUZ; PLANETA, 2007; PLOTSKY; MEANEY, 1993; WIGGER; NEUMANN, 1999). Desse modo, os filhotes são privados dos cuidados maternos por esse período de tempo e estão expostos às consequências das alterações no comportamento materno decorrentes da separação (LADD et al., 2000; NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002; PRYCE; BETTSCHEN; FELDON, 2001; PRYCE; FELDON, 2003; SCHMIDT et al., 2004). Esse modelo animal mimetiza situações humanas de negligência física e emocional por parte dos pais (HEIM; NEMEROFF, 2001; SHAMSEDDEEN et al., 2011).

Em animais, as variações dos cuidados maternos com a prole durante os primeiros dias de vida têm impacto sobre a regulação gênica, número de neurônios, concentração de neurotransmissores e na função neuroendócrina em resposta ao estresse (DE KLOET et al., 1986), o que pode provocar perturbações persistentes no comportamento dos filhotes (TEICHER, 2000). Essas consequências são similares às observadas nas doenças relacionadas ao estresse em seres humanos (NEWPORT; STOWE; NEMEROFF, 2002).

A separação materna prolongada pode aumentar tanto a concentração de CRH, como a expressão de seus receptores, o que poderia explicar os efeitos deste modelo de estresse sobre o consumo e a sensibilização comportamental ao etanol. Como o estresse altera a concentração de GCs e de CRH, como consequência, pode aumentar a transmissão dopaminérgica nas vias de recompensa modulando as respostas comportamentais às substâncias de uso abusivo, modificando assim, a responsividade do eixo HHA (AISA et al., 2008; PLOTSKY et al., 2005).

### *1.8 Modelos animais de exposição ao etanol*

Devido a questões éticas e à complexidade de realização de estudos em humanos, vários modelos animais têm sido desenvolvidos para estudar os aspectos comportamentais e alterações neuronais relacionadas à dependência, utilizando

principalmente mamíferos, como primatas não-humano e roedores, tornando-se instrumentos de grande importância para a saúde pública (SPANAGEL, 2000). No entanto, a dependência é uma desordem humana complexa que não pode ser “modelada” como um todo em um único modelo animal, pois nenhum deles podem representar todos os aspectos biopsicossocial intrínsecos ao ser humano (SPANAGEL, 2009). Contudo, alguns modelos animais foram desenvolvidos para investigar diversos aspectos, como o padrão de consumo, fatores que motivam a busca do uso de etanol, avaliação dos danos causados a órgãos em detrimento do consumo abusivo e comportamentos relacionados a dependência, síndrome de abstinência e recaída (TABAKOFF; HOFFMAN, 2000).

Todas as substâncias de uso abusivo funcionam como reforçadores positivos, pois possuem propriedades que causam efeitos euforizantes e prazerosos, motivando a repetição de seu consumo ou busca. Assim, alguns modelos animais podem ser utilizados para avaliar as propriedades reforçadoras de uma determinada substância psicoativa. O etanol pode exercer seus efeitos reforçadores em várias vias de administração, sendo mais usual a via oral, intragástrica, intraperitonal e inalatória (GILLIAM; PHILLIPS; DUDEK, 1985; PLANETA, 2013). Mas um dos modelos animais mais utilizado para analisar os efeitos reforçadores positivos do etanol são os modelos de autoadministração e consumo oral, que se aproximam do comportamento humano, mimetizando a comportamento de busca.

De forma simplificada, os modelos de autoadministração são baseados no condicionamento operante de Skinner. Nesse modelo, o animal é colocado em uma caixa que possui em seu interior uma alavanca. Sempre que o animal pressiona voluntariamente essa alavanca (ação), ele tem acesso a determinada quantidade de etanol como recompensa (reforço). Assim, o animal associa a necessidade da ação para a obtenção da recompensa (AUGIER, 2017; DOHERTY, J. M.; GONZALES, 2015; MEISCH; WAHLSTROM; PICKENS, 1970; MEISCH; THOMPSON, 1972; PAUTASSI; MIRANDA-MORALES; NIZHNIKOV, 2015).

No modelo de consumo voluntário de etanol os animais podem escolher livremente entre dois ou mais bebedouros, sendo que um deles contém água e os demais possuem soluções de etanol em diferentes concentrações (CAMARINI; HODGE, 2004; FACHIN-SCHEIT et al., 2006; RAEDER et al., 2008; SAMSON et al., 1998). Desse modo, o modelo de consumo por livre escolha permite determinar a preferência dos animais pelo etanol (CUNNINGHAM et al., 2000; MORAIS-SILVA

et al., 2016; SANCHIS-SEGURA; SPANAGEL, 2006). Os protocolos de consumo voluntário, dependendo da finalidade do estudo, podem variar quanto ao tempo de acesso dos animais aos bebedouros de etanol, podendo ser de acesso restrito (algumas horas por dia), intermitente (em dias alternados) ou contínuo (o etanol está sempre disponível) (BLEDNOV et al., 2005; LESSOV et al., 2001). Além disso, existe também outro modelo de consumo que avalia os efeitos crônicos do etanol. Nesse modelo, para indução da dependência alcoólica são ofertados apenas dois bebedouros (um com etanol e outro com água) por um período prolongado de tempo, que pode durar até meses (CARRARA e NASCIMENTO, 2013; GREEN; GRAHAME, 2008;). Dentre os sinais observados após a suspensão crônica do consumo de etanol destacam-se os comportamentos relacionados a ansiedade, que caracterizam a síndrome de abstinência nesses animais (CAMARIN; HODGE, 2004; GETACHEW et al., 2008; KOOB, 2009).

Ademais, estudos mostram que no protocolo de consumo crônico intermitente há aumento do consumo quando o acesso ao etanol é restabelecido, assemelhando-se ao consumo excessivo de etanol em humanos. Entretanto, esse comportamento não foi observado quando os animais foram submetidos ao protocolo de acesso contínuo ao etanol (GEORGE et al., 2012; SIMMS et al., 2008). Assim, segundo as definições do manual DSM-V sobre os transtornos de uso abusivo e dependência, no protocolo de acesso intermitente a solução de etanol simula o padrão de consumo “*binge*”, sendo considerado como um comportamento de risco para o desenvolvimento de dependência alcoólica (GEORGE et al., 2012).

Como o etanol possui um sabor aversivo é pouco consumido pelos animais. Raramente eles consomem mais do que 2 g dessa substância por dia, o que dificulta atingir a alcoolemia necessária para desenvolver um quadro de dependência e para desencadear sintomas da síndrome de abstinência quando a solução de etanol é retirada (HEILIG; EGLI, 2006; HEILIG; KOOB, 2007). Dessa forma, foram desenvolvidas estratégias para tornar o etanol mais palatável e aumentar o seu consumo. Uma delas é ofertar soluções de etanol em concentrações baixas, misturar substâncias adocicadas na solução ou aumentar as concentrações das soluções de etanol gradualmente ao logo do experimento, reduzindo assim, o emprego de substâncias adocicadas (CUNNINGHAM et al., 2000; SIMMS et al, 2010; VILLAS BOAS et al, 2012). A oferta de vários bebedouros com concentrações diferentes de

etanol ao invés de apenas um bebedouro também pode contribuir para o aumento consumo (BELL et al., 2006).

Outro modelo animal, o de Preferência Condicionada por Lugar (PCL), é utilizado para avaliar os comportamentos relacionados à dependência. Esse modelo é bastante utilizado para estudar as propriedades reforçadoras positivas de substâncias com potencial de uso abusivo e baseia-se no condicionamento clássico proposto por Ivan Pavlov (1927). Esse condicionamento consiste na associação entre o pareamento contínuo da administração de uma substância de uso abusivo durante o período em que o animal é confinado a um ambiente, enquanto em outro ambiente, que possui características sensoriais distintas, é administrado uma substância veículo, como por exemplo a salina. Quando o animal escolhe permanecer a maior parte do tempo no ambiente pareado à substância de uso abusivo, interpreta-se como uma medida indireta do efeito reforçador positivo da droga (SHIPPENBERG; KOOB, 2002). Importante ressaltar que todas as substâncias com potencial para causar dependência em humanos também induzem em modelos animais o comportamento de procura pelo ambiente pareado à droga no procedimento de PCL (ROBINSON; BERRIDGE, 2003). Um estudo recente revelou que fatores ambientais, como a exposição ao estresse altera a PCL ao etanol (MOREIRA-SILVA et al., 2014).

## 2 JUSTIFICATIVA

---

O estresse é um grande problema das sociedades modernas. Esse estado emocional não é considerado por si só uma doença ou quadro nosológico distinto, entretanto, ele contribui potencialmente para o desenvolvimento de grande número de enfermidades, tanto de ordem psíquica como orgânica. Vários modelos animais têm sido utilizados para o estudo da neurobiologia do estresse, dentre os quais destacam-se os paradigmas de separação materna breve e prolongada. Estes modelos de estresse neonatal apresentam uma relevância etológica significativa pelo fato de apresentarem similaridade com alguns tipos de estresse psicossociais vivenciados por seres humanos. Nesse aspecto, podem auxiliar na compreensão de respostas comportamentais e fisiológicas associadas ao estresse.

O etanol é uma das principais substâncias de uso abusivo consumidas em todo mundo. A ingestão crônica e de doses elevadas dessa substância tem sido associada a vários problemas de saúde em homens e mulheres, incluindo doenças hepáticas, câncer, cardiomiopatia, entre outros. Alguns estudos apontam diferenças no padrão de consumo de etanol entre os sexos e sua associação com o risco de desenvolvimento de algumas patologias. Em seres humanos é difícil quantificar o consumo de etanol e estabelecer parâmetros comparativos entre os sexos e a idade dos indivíduos. Boa parte do conhecimento relacionado ao consumo e a dependência ao etanol em humanos advém de estudos que utilizam questionários como instrumento para a coleta de dados, o que está associado às limitações éticas da experimentação em seres humanos. Nesse sentido, modelos animais representam uma excelente oportunidade para estudar a influência de fatores ambientais, genéticos, endócrinos, da idade e do sexo na suscetibilidade, progressão do uso e na patogênese de doenças associadas ao etanol.

Alguns estudos mostram que a exposição a períodos breves e prolongados de estresse no início da vida pode influenciar de forma diferenciada a propensão ao consumo e à exibição de comportamentos relacionados à dependência ao etanol. Entretanto, não há consenso na literatura sobre as diferenças entre os sexos e a idade. Outra limitação são os protocolos utilizados, que apresentam diferenças marcantes entre os laboratórios, o que dificulta a comparação entre eles. Assim, este estudo investigou a influência da separação materna breve e prolongada sobre o consumo de etanol em ratos Wistar adolescentes e adultos, machos e fêmeas.

## 3 OBJETIVOS

---

### *3.1 Objetivo geral*

Avaliar a influência da separação materna breve e prolongada sobre o padrão de consumo e preferência condicionada por lugar ao etanol em ratos Wistar machos e fêmeas, adolescentes e adultos.

### *3.2 Objetivos específicos*

Avaliar os efeitos da exposição à separação materna breve e prolongada sobre:

- Os comportamentos relacionados a ansiedade no teste do labirinto em cruz elevado (LCE);
- O consumo total de etanol em ratos adolescentes e adultos de ambos os sexos;
- A indução da preferência condicionada por lugar ao etanol em ratos adolescentes e adultos de ambos os sexos.

## REFERÊNCIAS

---

ACEVEDO, M. B. et al. Ethanol-induced locomotor activity in adolescent rats and the relationship with ethanol-induced conditioned place preference and conditioned taste aversion. **Developmental Psychobiology**, v. 55, n. 4, p. 429-442, 2013.

AISA, B. et al. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 32, n. 3, p. 256-266, 2007.

AISA, B. et al. Effects of maternal separation on hypothalamic-pituitary-adrenal responses, cognition and vulnerability to stress in adult female rats. **Neuroscience**, v.154, p.1218-1226, 2008.

ALMEIDA, O. F. et al. Gender differences in ethanol preference and ingestion in rats. The role of the gonadal steroid environment. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 101, n. 12, p. 2677–2685, 1998.

ANAND, K. J. S.; SCALZO, F. M. Can adverse neonatal experiences alter brain development and subsequent behavior? **Neonatology**, v. 77, n. 2, p. 69-82, 2000.

ANDERSEN, S. L. et al. Dopamine receptor pruning in prefrontal cortex during the periadolescent period in rats. **Synapse**, v. 37, n. 2, p. 167–169, 2000.

ANDERSEN, S. L. et al. Preliminary evidence for sensitive periods in the effect of childhood sexual abuse on regional brain development. **The Journal of Neuropsychiatry & Clinical Neurosciences**, v. 20, p. 292–301, 2008.

ANDERSEN, S. L. et al. Pubertal changes in gonadal hormones do not underlie adolescent dopamine receptor overproduction. **Psychoneuroendocrinology**, v. 27, n. 6, p. 683–691, 2002.

ANDERSEN, S. L. Trajectories of brain development: point of vulnerability or window of opportunity? **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1–2, p. 3–18, 2003.

ANDERSEN, S. L.; DUMONT, N. L.; TEICHER, M. H. Developmental differences in dopamine synthesis inhibition by (±)-7-OH-DPAT. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 356, n. 2, p. 173–181, 1997.

ANDERSEN, S. L.; TEICHER, M. H. Stress, sensitive periods and maturational events in adolescent depression. **Trends in Neurosciences**, v. 31, n. 4, p. 183–191, 2008.

APA - AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **DSM-IV**: Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4. ed. Washington, DC: American Psychiatric Association, 1994.

APA - AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **DSM-V**: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 992p. 2014.

ARIAS-CARRIÓN, Oscar et al. Dopaminergic reward system: a short integrative review. **International Archives of Medicine**, v. 3, n. 1, p. 24, 2010.

AUGIER, E. et al. A method for evaluating the reinforcing properties of ethanol in rats without water deprivation, saccharin fading or extended access training. **Journal of Visualized Experiments**, v. 119, p. e53305, 2017.

BAAN, R. et al. Carcinogenicity of alcoholic beverages. **The Lancet Oncology**, v. 8, p. 292–93, 2007.

BAHI, A. Increased anxiety, voluntary alcohol consumption and ethanol-induced place preference in mice following chronic psychosocial stress. **Stress**, v. 16, n. 4, p. 441-451, 2013.

BALDINI, S. et al. Enriched early life experiences reduce adult anxiety-like behavior in rats: a role for insulin-like growth factor 1. **The Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 28, p. 11715–11723, 2013.

BANGASSER, D. A.; VALENTINO, R. J. Sex differences in stress-related psychiatric disorders: neurobiological perspectives. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 35, n. 3, p. 303–319, 2014.

BARKER, J. M. et al. Dissociation of genetic and hormonal influences on sex differences in alcoholism-related behaviors. **Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 27, p. 9140–9144, 2010.

BAU, C. H. D. Estado atual e perspectivas da genética e epidemiologia do alcoolismo. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 7, p. 183–190, 2002.

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

BECKER, H. C. et al. Sensitivity to ethanol in female mice: effects of ovariectomy and strain. **Life Sciences**, v. 37, n. 14, p. 1293–1300, 1985.

BECKER, H. C.; LOPEZ, M. F.; DOREMUS-FITZWATER, T. L. Effects of stress on alcohol drinking: a review of animal studies. **Psychopharmacology**, v. 218, n. 1, p. 131, 2011.

BECKER, J. B.; MOLEND, H.; HUMMER, D. L. Gender differences in the behavioral responses to cocaine and amphetamine. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 937, n. 1, p. 172–187, 2001.

BELL, R. L. et al. Effects of concurrent access to a single concentration or multiple concentrations of ethanol on ethanol intake by periadolescent high-alcohol-drinking rats. **Alcohol**, v. 33, n. 2, p. 107–115, 2004.

BENETTI, F. et al. Early postnatal maternal deprivation in rats induces memory deficits in adult life that can be reversed by donepezil and galantamine. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 27, n. 1, p. 59–64, 2009.

BENETTI, F. et al. Effects of neonatal novelty exposure on sexual behavior, fear, and stress-response in adult rats. **Developmental Psychobiology**, v. 49, n. 3, p. 258–264, 2007.

BERARDO, L. R.; FABIO, M. C.; PAUTASSI, R. M. Post-weaning environmental enrichment, but not chronic maternal isolation, enhanced ethanol intake during periadolescence and early adulthood. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 10, p. 195, 2016.

BERG, C. et al. Diagnostic utility of the glucagon stimulation test in comparison to the insulin tolerance test in patients following pituitary surgery. **European Journal of Endocrinology**, v. 162, n. 3, p. 477–482, 2010.

BERG, C. et al. Diagnostic utility of the glucagon stimulation test in comparison to the insulin tolerance test in patients following pituitary surgery. **European Journal of Endocrinology**, v. 162, n. 3, p. 477–482, 2010.

BERGER, B. et al. Postnatal ontogenesis of the dopaminergic innervation in the rat anterior cingulate cortex (area 24). Immunocytochemical and catecholamine fluorescence histochemical analysis. **Developmental Brain Research**, v. 21, n. 1, p. 31–47, 1985.

BHATNAGAR, S.; MEANEY, M. J. Hypothalamic-pituitary-adrenal function in chronic intermittently cold-stressed neonatally handled and non handled rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 7, n. 2, p. 97–108, 1995.

BHATNAGAR, S.; MEANEY, M. J. Hypothalamic-pituitary-adrenal function in chronic intermittently cold-stressed neonatally handled and non handled rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 7, n. 2, p. 97–108, 1995.

BIENKOWSKI, P. et al. Effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists on reinforced and nonreinforced responding for ethanol in rats. **Alcohol**, v. 18, n. 2–3, p. 131–137, 1999.

BLANCHARD, B. A. et al. Sex differences in ethanol-induced dopamine release in nucleus accumbens and in ethanol consumption in rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 17, n. 5, p. 968–973, 1993.

- BLEDNOV, Y. A. et al. Hybrid C57BL/6J× FVB/NJ mice drink more alcohol than do C57BL/6J mice. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 29, n. 11, p. 1949-1958, 2005.
- BRANDÃO, M. L. et al. Gabaergic regulation of the neural organization of fear in the midbrain tectum. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 8, p. 1299–1311, 2005.
- BREIT, K. R.; CHESTER, J. A. Effects of Chronic Stress on Alcohol Reward and Anxiety-Related Behavior in High and Low Alcohol Preferring Mice. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 40, n. 3, p. 482-490, 2016.
- BRENHOUSE, H. C.; SONNTAG, K. C.; ANDERSEN, S. L. Transient D1 dopamine receptor expression on prefrontal cortex projection neurons: relationship to enhanced motivational salience of drug cues in adolescence. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 10, p. 2375–2382, 2008.
- BRUNELL, S. C.; SPEAR, L. P. Effect of stress on the voluntary intake of a sweetened ethanol solution in pair-housed adolescent and adult rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 29, n. 9, p. 1641–1653, 2005.
- CALDJI, C.; DIORIO, J.; MEANEY, M.J. Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. **Biol Psychiatry**. v. 48, n. 12, p.1164-74, dez. 2000.
- CALIPARI, E.S. et al. Dopaminergic dynamics underlying sex-specific cocaine reward. **Nature Communications**, v. 8, p. 13877, 2017.
- CAMARINI, R.; HODGE, C. W. Ethanol preexposure increases ethanol self-administration in C57BL/6J and DBA/2J mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 79, n. 4, p. 623-632, 2004.
- CAMPANELLA, S. et al. Increased cortical activity in binge drinkers during working memory task: a preliminary assessment through a functional magnetic resonance imaging study. **PloS One**, v. 8, n. 4, p. e62260, 2013.
- CARBONI, S. et al. Ethanol prevents the glutamate release induced by N-methylaspartate in the rat striatum. **Neuroscience Letters**, v. 152, n. 1–2, p. 133–136, 1993.
- CARLINI, E. A. et al. II Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 108 maiores cidades do país: 2005. **CEBRID** - Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas: UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo. São Paulo: Páginas & Letras, p.1-472, 2005.
- CAROBREZ, A.P.; BERTOGLIO, L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.29, n.8, p.1193-205, 2005.

CARRARA□NASCIMENTO, P. F. et al. Similar Ethanol Drinking in Adolescent and Adult C 57 BL/6 J Mice After Chronic Ethanol Exposure and Withdrawal. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 37, n. 6, p. 961-968, 2013.

CASEY, B. J.; JONES, R. M. Neurobiology of the adolescent brain and behavior: implications for substance use disorders. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 49, n. 12, p. 1189-1201, 2010.

CASTRO, S. L.; ZIGMOND, M. J. Stress-induced increase in extracellular dopamine in striatum: role of glutamatergic action via N-methyl-D-aspartate receptors in substantia nigra. **Brain Research**, v. 901, n. 1-2, p. 47-54, 2001.

CEBRID (Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas). **Livreto Informativo Sobre Drogas Psicotrópicas**, 2013. Disponível em: < <http://www.cebrid.com.br/wp-content/uploads/2012/12/LivretoInformativosobreDrogasPsicotr%C3%B3picas.pdf> >.

CHAMPAGNE, D. L.; DE KLOET, E. R.; JOËLS, M. Fundamental aspects of the impact of glucocorticoids on the (immature) brain. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, v. 14, p. 136-142, 2009.

CHROUSOS, G. P.; GOLD, P. W. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. **Jama**, v. 267, n. 9, p. 1244-1252, 1992.

CIPPITELLI, A. et al. Binge□like ethanol consumption increases corticosterone levels and neurodegeneration whereas occupancy of type II glucocorticoid receptors with mifepristone is neuroprotective. **Addiction Biology**, v. 19, n. 1, p. 27-36, 2012.

CIRULLI, F.; BERRY, A.; ALLEVA, E. Early disruption of the mother□infant relationship: effects on brain plasticity and implications for psychopathology. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1-2, p. 73-82, 2003.

CONDE□AGUDELO, A.; BELIZÁN, J. M.; DIAZ□ROSSELLO, J. Cochrane Review: Kangaroo mother care to reduce morbidity and mortality in low birthweight infants. **Evidence□Based Child Health: A Cochrane Review Journal**, v. 7, n. 2, p. 760-876, 2012.

COOPER, M. L. et al. Stress and alcohol use: moderating effects of gender, coping, and alcohol expectancies. **Journal of Abnormal Psychology**, v. 101, n. 1, p. 139, 1992.

COSTA, J. S. et al. Heavy alcohol consumption and associated factors: a population-based study. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 284-291, 2004.

COSTELA, P. et al. Effect of neonatal handling on learned helplessness model of depression. **Physiology and Behavior**, v. 57, p.407-410, 1995.

CREGO, A. et al. Reduced anterior prefrontal cortex activation in young binge drinkers during a visual working memory task. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 109, n. 1-3, p. 45-56, 2010.

CREWS, F.; HE, J.; HODGE, C. Adolescent cortical development: a critical period of vulnerability for addiction. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 86, n. 2, p. 189–199, 2007.

CUNNINGHAM, C. L. et al. Ethanol-conditioned place preference is reduced in dopamine D2 receptor-deficient mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 67, n. 4, p. 693–699, 2000.

CUNNINGHAM, C. L.; GREMEL, C. M.; GROBLEWSKI, P. A. Drug-induced conditioned place preference and aversion in mice. **Nature Protocols**, v. 1, n. 4, p. 1662, 2006.

CUNNINGHAM, C. L.; NOBLE, D. Conditioned activation induced by ethanol: role in sensitization and conditioned place preference. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 43, n. 1, p. 307-313, 1992.

CZÉH, B. et al. Animal models of major depression and their clinical implications. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 64, p. 293-310, 2015.

DACKIS, C.; O'BRIEN, C. Neurobiology of addiction: treatment and public policy ramifications. **Nature Neuroscience**, v. 8, p. 1431-1436, 2005.

DANBOLT, N. C. Glutamate uptake. **Progress in Neurobiology**, v. 65, n. 1, p. 1–105, 2001.

DAOURA, L.; HAAKER, J.; NYLANDER, I. Early environmental factors differentially affect voluntary ethanol consumption in adolescent and adult male rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 35, n. 3, p. 506–515, 2011.

DAZZI, L. et al. Prevention of the stress-induced increase in frontal cortical dopamine efflux of freely moving rats by long-term treatment with antidepressant drugs. **European Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 5, p. 343–349, 2001.

DE BELLIS, M. D. Developmental traumatology: a contributory mechanism for alcohol and substance use disorders. **Psychoneuroendocrinology**, v. 27, p.155-170, 2002.

DE BELLIS, M. D. et al. Developmental traumatology part II: brain development. **Biological Psychiatry**, v. 45, n. 10, p. 1271–1284, 1999.

DE KLOET, E. R.; JOËLS, M.; HOLSBOER, F. Stress and the brain: from adaptation to disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 6, p. 463, 2005.

DE KLOET, E.R. et al. Function and plasticity of brain corticosteroid receptor systems: action of neuropeptides. **Journal of Steroid Biochemistry**, v. 25, n. 5B, p.723-31, 1986.

DE, B.M. Developmental traumatology: a contributory mechanism for alcohol and substance use disorders. **Psychoneuroendocrinology**, v. 27, p. 155-170, 2002.

DELAVARI, F. et al. Maternal separation and the risk of drug abuse in later life. **Addiction & Health**, v. 8, n. 2, p. 107, 2016.

DER-AVAKIAN, A. et al. Surgical and pharmacological suppression of glucocorticoids prevents the enhancement of morphine conditioned place preference by uncontrollable stress in rats. **Psychopharmacology**, v. 179, n. 2, p. 409-417, 2005.

DERIJK, R.; STERNBERG, E. M. Corticosteroid action and neuroendocrine-immune interactions. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 746, n. 1, p. 33-41, 1994.

DHABHAR, F. S. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. **Neuroimmunomodulation**, v. 16, n. 5, p. 300-317, 2009.

DIANA, M. et al. Marked decrease of A10 dopamine neuronal firing during ethanol withdrawal syndrome in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 221, n. 2-3, p. 403-404, 1992.

DIEHL, L. A. **Separação materna como possível fator de risco para o desencadeamento do transtorno de estresse pós-traumático – um modelo em animais de experimentação**. 2009. 130f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2009.

DIEHL, L. A. **Separação materna como possível fator de risco para o desencadeamento do transtorno de estresse pós-traumático – um modelo em animais de experimentação**. 2009. 130f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2009.

DODD, P. R. et al. Glutamate-mediated transmission, alcohol, and alcoholism. **Neurochemistry International**, v. 37, n. 5-6, p. 509-533, 2000.

DOHERTY, J. M.; GONZALES, R. A. Lack of effect of nucleus accumbens dopamine D1 receptor blockade on consumption during the first two days of operant self-administration of sweetened ethanol in adult Long-Evans rats. **Alcohol**, v. 49, n. 6, p. 543-551, 2015.

DOREMUS, T. L. et al. Factors influencing elevated ethanol consumption in adolescent relative to adult rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 29, n. 10, p. 1796-1808, 2005.

- DRZEWIECKI, C.M.; WILLING, J.; JURASKA, J. M. Synaptic number changes in the medial prefrontal cortex across adolescence in male and female rats: a role for pubertal onset. **Synapse**, v. 70, n. 9, p. 361-368, 2016.
- DUBE, S. R. et al. Childhood abuse, household dysfunction, and the risk of attempted suicide throughout the life span: findings from the Adverse Childhood Experiences Study. **Jama**, v. 286, n. 24, p. 3089–3096, 2001.
- EL-MAS, M. M.; ABDEL-RAHMAN, A. A. Ovariectomy alters the chronic hemodynamic and sympathetic effects of ethanol in radiotelemetered female rats. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 22, n. 1, p. 109–126, 2000.
- EMANUELE, N. et al. EtOH disrupts female mammalian puberty. **Endocrine**, v. 18, n. 3, p. 247–254, 2002.
- ENOCH, M.-A. The role of early life stress as a predictor for alcohol and drug dependence. **Psychopharmacology**, v. 214, n. 1, p. 17–31, 2011.
- ERDOZAIN, A. M.; CALLADO, L. F. Neurobiological alterations in alcohol addiction: a review. **Adicciones**, v. 26, n. 4, p. 360–70, 2014.
- ESTANISLAU, C.; MORATO, S. Prenatal stress produces more behavioral alterations than maternal separation in the elevated plus-maze and in the elevated T-maze. **Behavioural Brain Research**, v.163, n.1, p.70–77, 2005.
- FACHIN-SCHEIT, D. J. et al. Development of a mouse model of ethanol addiction: naltrexone efficacy in reducing consumption but not craving. **Journal of Neural Transmission**, v. 113, n. 9, p. 1305-1321, 2006.
- FADDA, F.; ROSSETTI, Z. L. Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. **Progress in Neurobiology**, v. 56, p.385-431, 1998.
- FERNÁNDEZ-TERUEL, A. et al. Infantile (handling) stimulation and behaviour in young roman high- and low-avoidance rats. **Physiology & Behavior**, v. 50, p.563-565, 1991.
- FIELD, M.; SCHOENMAKERS, T.; WIERS, R. W. Cognitive processes in alcohol binges: a review and research agenda. **Current Drug Abuse Reviews**, v. 1, n. 3, p. 263-279, 2008.
- FORD, M. M.; ELDRIDGE, J. C.; SAMSON, H. H. Ethanol consumption in the female Long–Evans rat: a modulatory role of estradiol. **Alcohol**, v. 26, n. 2, p. 103–113, 2002.
- FRANCIS, D.D.; MEANEY, M.J. Maternal care and the development of stress responses. **Current Opinion in Neurobiology**, v.9, n.1, p.128–34, 1999.
- FROELICH, J. C.; LI, T.-K. Opioid involvement in alcohol drinking. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 739, n. 1, p. 156–167, 1994.

FÜLLGRABE, M. W.; VENGELIENE, V.; SPANAGEL, R. Influence of age at drinking onset on the alcohol deprivation effect and stress-induced drinking in female rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 86, n. 2, p. 320–326, 2007.

FUNK, D. et al. Effects of unconditioned and conditioned social defeat on alcohol self-administration and reinstatement of alcohol seeking in rats. **Psychopharmacology**, v. 183, n. 3, p. 341-349, 2005.

FUNK, D.; LI, Z.; L, A. D. Effects of environmental and pharmacological stressors on c-fos and corticotropin-releasing factor mRNA in rat brain: relationship to the reinstatement of alcohol seeking. **Neuroscience**, v. 138, p. 235–243, 2006.

GAINETDINOV, R. R. et al. Re-evaluation of the role of the dopamine transporter in dopamine system homeostasis. **Brain Research Reviews**, v. 26, n. 2–3, p. 148–153, 1998.

GANGULY, P.; BRENHOUSE, H. C. Broken or maladaptive? Altered trajectories in neuroinflammation and behavior after early life adversity. **Developmental Cognitive Neuroscience**, v. 11, p. 18–30, 2015.

GARCÍA-BURGOS, D. et al. Patterns of ethanol intake in preadolescent, adolescent, and adult Wistar rats under acquisition, maintenance, and relapse-like conditions. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, p. 722–728, 2009.

GATTO, G. J. et al. Chronic ethanol tolerance through free-choice drinking in the P line of alcohol-preferring rats. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 28, n. 1, p. 111-115, 1987.

GATTO, G. J. et al. Chronic ethanol tolerance through free-choice drinking in the P line of alcohol-preferring rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 28, n. 1, p. 111-115, 1987.

GEORGE, O. et al. Recruitment of medial prefrontal cortex neurons during alcohol withdrawal predicts cognitive impairment and excessive alcohol drinking. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 44, p. 18156-18161, 2012.

GIANOULAKIS, C.; KRISHNAN, B.; THAVUNDAYIL, J. Enhanced sensitivity of pituitary  $\beta$ endorphin to ethanol in subjects at high risk of alcoholism. **Archives of General Psychiatry**, v. 53, n. 3, p. 250–257, 1996.

GIGLIOTTI, A.; ANTONIO, M. Síndrome de dependência do etanol: critérios diagnósticos. **Revista Brasileira de Psiquiatria** v. 26, n. Supl I, p. 11–13, 2004.

GILPIN, N. W.; KARANIKAS, C. A.; RICHARDSON, H. N. Adolescent binge drinking leads to changes in alcohol drinking, anxiety, and amygdalar corticotropin releasing factor cells in adulthood in male rats. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e31466, 2012.

- GINGRICH, J. A.; HEN, R. Dissecting the role of the serotonin system in neuropsychiatric disorders using knockout mice. **Psychopharmacology**, v. 155, n. 1, p. 1–10, 2001.
- GIORGI, O. et al. Developmental and age-related changes in D1-dopamine receptors and dopamine content in the rat striatum. **Developmental Brain Research**, v. 35, n. 2, p. 283–290, 1987.
- GOEDERS, N. E. The HPA axis and cocaine reinforcement. **Psychoneuroendocrinology**, v. 27, n. 1, p. 13–33, 2002.
- GOEDERS, N. E. The impact of stress on addiction. **European Neuropsychopharmacology**, v. 13, n. 6, p. 435–441, 2003.
- GOLOVKO, A. I. et al. The influence of ethanol on the functional status of GABA A receptors. **Biochemistry (Moscow)**, v. 67, n. 7, p. 719–729, 2002.
- GRAEFF, F.G.; BRANDÃO, M.L. **Neurobiologia das Doenças Mentais**. 4. ed. São Paulo: Editora Lemos, 1999.
- GRANHOLM, L. et al. The expression of opioid genes in non-classical reward areas depends on early life conditions and ethanol intake. **Brain Research**, v. 1668, p. 36–45, 2017.
- GRANT, B. F.; DAWSON, D. A. Age at onset of alcohol use and its association with DSM-IV alcohol abuse and dependence: results from the National Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey. **Journal of Substance Abuse**, v. 9, p. 103–110, 1997.
- GROTA, L. J.; ADER, R. Continuous recording of maternal behaviour in *Rattus norvegicus*. **Animal Behaviour**, v. 17, n. 4, p. 722–729, 1969.
- GUSTAFSSON, L.; NYLANDER, I. Time-dependent alterations in ethanol intake in male wistar rats exposed to short and prolonged daily maternal separation in a 4-bottle free-choice paradigm. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 30, n. 12, p. 2008–2016, 2006.
- GUSTAFSSON, L.; PLOJ, K.; NYLANDER, I. Effects of maternal separation on voluntary ethanol intake and brain peptide systems in female Wistar rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 81, n. 3, p. 506–516, 2005.
- HALTER, J. B.; BEARD, J. C.; PORTE, D. JR. Islet function and stress hyperglycemia: plasma glucose and epinephrine interaction. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 247, n. 1, p. E47-E52, 1984.
- HÄRFSTRAND, A. et al. Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, n. 24, p. 9779–9783, 1986.

HÄRFSTRAND, Anders et al. Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 83, n. 24, p. 9779-9783, 1986.

HARGREAVES, G. A. et al. Intermittent access to beer promotes binge-like drinking in adolescent but not adult Wistar rats. **Alcohol**, v. 43, n. 4, p. 305–314, 2009.

HAUGER, R. L. et al. Corticotropin releasing factor (CRF) receptor signaling in the central nervous system: new molecular targets. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets**, v. 5, n. 4, p. 453–479, 2006.

HAYCOCK, J. W. et al. Marked disparity between age-related changes in dopamine and other presynaptic dopaminergic markers in human striatum. **Journal of Neurochemistry**, v. 87, n. 3, p. 574–585, 2003.

HECKMANN, Wolfgang; SILVEIRA, Camila Magalhães. Dependência do álcool: aspectos clínicos e diagnósticos. **Andrade AG, Anthony JC, Silveira CM. Álcool e suas consequências: uma abordagem multiconceitual. Barueri (SP): Minha Editora**, p. 67-87, 2009.

HEILIG, M.; EGLI, M. Pharmacological treatment of alcohol dependence: target symptoms and target mechanisms. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 111, n. 3, p. 855-876, 2006.

HEILIG, M.; KOOB, G. F. A key role for corticotropin-releasing factor in alcohol dependence. **Trends in Neurosciences**, v. 30, n. 8, p. 399-406, 2007.

HEIM, C.; NEMEROFF, C. B. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. **Biological Psychiatry**, v. 49, n. 12, p. 1023–1039, 2001.

HILAKIVI-CLARKE, L.A. et al. Effects of early postnatal handling on brain b-adrenoceptors and behavior in tests related to stress. **Brain Research**, v. 542, p.286–292. 1991.

HOLMES, A. et al. Early life genetic, epigenetic and environmental factors shaping emotionality in rodents. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 8, p. 1335–1346, 2005.

HUOT, R. L. et al. Development of adult ethanol preference and anxiety as a consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats and reversal with antidepressant treatment. **Psychopharmacology**, v. 158, n. 4, p. 366–373, 2001.

HUOT, R.L. et al. Neonatal maternal separation reduces hippocampal mossy fiber density in adult Long Evans rats. **Brain Research**, v.950, n.1-2, p.52-63, 2002.

HWA, L. S. et al. Persistent escalation of alcohol drinking in C57BL/6J mice with intermittent access to 20% ethanol. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 35, n. 11, p. 1938–1947, 2011.

HYMAN, S. E.; MALENKA, R. C.; NESTLER, E. J. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. **Annual Review of Neuroscience**, v. 29, p. 565–598, 2006.

JAIME, H. J. et al. Young-adult male rats' vulnerability to chronic mild stress is reflected by anxious-like instead of depressive-like behaviors. **Neuroscience Journal**, ID: 5317242, p. 1-12, 2016.

JAWORSKI, J. N. et al. Effects of early maternal separation on ethanol intake, GABA receptors and metabolizing enzymes in adult rats. **Psychopharmacology**, v. 181, n. 1, p. 8–15, 2005.

JOHNSON, J. G. et al. Childhood adversities, interpersonal difficulties, and risk for suicide attempts during late adolescence and early adulthood. **Archives of General Psychiatry**, v. 59, n. 8, p. 741–749, 2002.

JURASKA, J.M.; SISK, C.L.; DONCARLOS, L.L. Sexual differentiation of the adolescent rodent brain: hormonal influences and developmental mechanisms. **Hormones and Behavior**, v. 64, n. 2, p. 203-210, 2013.

KALARIA, R. N. et al. Synaptic neurochemistry of human striatum during development: changes in sudden infant death syndrome. **Journal of Neurochemistry**, v. 60, n. 6, p. 2098–2105, 1993.

KALAYDJIAN, A. et al. Sociodemographic predictors of transitions across stages of alcohol use, disorders, and remission in the National Comorbidity Survey Replication. **Comprehensive Psychiatry**, v. 50, n. 4, p. 299–306, 2009.

KALIVAS, P. W.; DUFFY, P. Selective activation of dopamine transmission in the shell of the nucleus accumbens by stress. **Brain Research**, v. 675, n. 1–2, p. 325–328, 1995.

KALIVAS, P. W.; STEWART, J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug-and stress-induced sensitization of motor activity. **Brain Research Reviews**, v. 16, n. 3, p. 223–244, 1991.

KALSBECK, A. et al. Development of the dopaminergic innervation in the prefrontal cortex of the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 269, n. 1, p. 58–72, 1988.

KAUER, J. A.; MALENKA, R. C. Synaptic plasticity and addiction. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 11, p. 844, 2007.

KAUFMAN, J. et al. Genetic and environmental predictors of early alcohol use. **Biological Psychiatry**, v. 61, p.1228–1234, 2007.

KEHR, W.; LINDQVIST, M.; CARLSSON, A. Distribution of dopamine in the rat cerebral cortex. **Journal of Neural Transmission**, v. 38, n. 3–4, p. 173–180, 1976.

KEYES, K. M. et al. Stress and alcohol: epidemiologic evidence. **Alcohol Research: Current Reviews**, 2012.

KIIANMAA, K. et al. Effect of ethanol on extracellular dopamine in the nucleus accumbens of alcohol-preferring AA and alcohol-avoiding ANA rats. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 52, n. 1, p. 29-34, 1995.

KOEHL, M. et al. Individual vulnerability to substance abuse and affective disorders: role of early environmental influences. **Neurotoxicity Research**, v. 4, n. 4, p. 281–296, 2002.

KOOB, G. F. et al. Neurocircuitry targets in ethanol reward and dependence. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 22, n. 1, p. 3–9, 1998.

KOOB, G. F. Neurobiological substrates for the dark side of compulsivity in addiction. **Neuropharmacology**, v. 56, p. 18-31, 2009.

KOOB, G. F.; LE MOAL, M. Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. **Science**, v. 278, n. 5335, p. 52–58, 1997.

KOOB, G. F.; LE MOAL, M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. **Neuropsychopharmacology**, v. 24, p. 97-129, 2001.

KRATZ, M. **Estudo da persistência da extinção de memórias aversivas em animais submetidos a diferentes intervenções no período neonatal**. 2013. 65f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2013.

KUSHNER, M. G.; SHER, K. J.; BEITMAN, B. D. The relation between alcohol problems and the anxiety disorders. **The American Journal of Psychiatry**, v. 147, n. 6, p. 685, 1990.

KUSHNER, M. G.; SHER, K. J.; BEITMAN, B. D. The relation between alcohol problems and the anxiety disorders. **The American Journal of Psychiatry**, v. 147, n. 6, p. 685, 1990.

LADD, C.O. et al. Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. **Progress in Brain Research**, v.122, p.81–103, 2000.

LANCASTER, F. E. et al. Sex differences in alcohol preference and drinking patterns emerge during the early postpubertal period in sprague-dawley rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 20, n. 6, p. 1043–1049, 1996.

LANCASTER, F. E. et al. Sex differences in alcohol preference and drinking patterns emerge during the early postpubertal period in sprague-dawley rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 20, n. 6, p. 1043-1049, 1996.

LANCASTER, F. E. Sex differences in voluntary drinking by Long Evans rats following early stress. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 22, n. 4, p. 830–836, 1998.

LANCASTER, F. E.; SPIEGEL, K. S. Sex differences in pattern of drinking. **Alcohol**, v. 9, n. 5, p. 415–420, 1992.

LARANJEIRA, R.; NICASTRI, S.; ERÔNIMO, C.J.; MARQUES, A.C. Consenso sobre a síndrome de abstinência do etanol (SAA) e o seu tratamento. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, n. 2, p.62-71, 2000.

LAWRENCE, A. M. Glucagon provocative test for pheochromocytoma. **Annals of Internal Medicine**, v. 66, n. 6, p. 1091-1096, 1967.

LÊ, A. D. et al. Role of alpha-2 adrenoceptors in stress-induced reinstatement of alcohol seeking and alcohol self-administration in rats. **Psychopharmacology**, v. 179, n. 2, p. 366-373, 2005.

LÊ, A. D. et al. The role of corticotrophin-releasing factor in stress-induced relapse to alcohol-seeking behavior in rats. **Psychopharmacology**, v. 150, n. 3, p. 317-324, 2000.

LEE, J.H. et al. Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. **Neuroscience Research**, v.58, n.1, p.32–39, 2007.

LESSOV, C. N. et al. Voluntary ethanol drinking in C57BL/6J and DBA/2J mice before and after sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol. **Psychopharmacology**, v. 155, n. 1, p. 91-99, 2001.

LEVANTAMENTO NACIONAL DE ÁLCOOL E DROGAS (LENAD-II). Consumo de álcool no Brasil: tendências entre 2006 e 2012. INPAD. 2012.

LEVINE, A. et al. Neurobiology of Disease Early life stress triggers sustained changes in histone deacetylase expression and histone H4 modifications that alter responsiveness to adolescent antidepressant treatment. **Neurobiology of Disease**, v. 45, n. 1, p. 488–498, 2012.

LEVINE, S. et al. Physiological and behavioral effects of infantile stimulation. **Physiology & Behavior**, v. 2, p. 55-59, 1967.

LEVINE, S. Primary social relationships influence the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. **Physiology & Behavior**, v.73, p.255-260, 2001.

LEVINE, S.; ALPERT, M.; LEWIS, G. W. Infantile experience and the maturation of the pituitary-adrenal axis. **Science**, 1957.

LEVINE, S.; LEWIS, G. W. The relative importance of experimenter contact in an effect produced by extrastimulation in infancy. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 52, n. 3, p. 368, 1959.

LIU, D. et al. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. **Nature Neuroscience**, v. 3, n. 8, p.799-806, ago 2000.

LIU, D. et al. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. **Science**, v. 277, p. 1659-1662. 1997.

LIU, J. et al Binge alcohol drinking is associated with GABAA  $\alpha$ 2-regulated Toll-like receptor 4 (TLR4) expression in the central amygdala. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 11, p. 4465-4470, 2011.

LLORENTE, R. et al. Early maternal deprivation and neonatal single administration with a cannabinoid agonist induce long-term sex-dependent psychoimmunoendocrine effects in adolescent rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 32, n. 6, p. 636–650, 2007.

LÓPEZ, J. F.; AKIL, H.; WATSON, S. J. Neural circuits mediating stress, **Biological Psychiatry**, v. 46, p. 1461-1471, 1999.

LUCKE-WOLD, B. The varied uses of conditioned place preference in behavioral neuroscience research: an investigation of alcohol administration in model organisms. **Impulse (Columbia, SC)**, v. 2011, 2011.

LUPIEN, S. J. et al. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 434, 2009.

LUPIEN, S. J. et al. Stress hormones and human memory function across the lifespan. **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, n. 3, p. 225-242, 2005.

LUTZ, M. L. **Modelo de estresse materno perinatal em ratos: efeito sobre filhotes**. 2011. 84f. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS), Porto Alegre, 2011.

MAHER, J. J. How does estrogen enhance endotoxin toxicity? Let me count the ways. **Hepatology**, v. 28, n. 6, p. 1720–1721, 1998.

MARCHETTE, R. C. N. **Avaliação temporal dos efeitos do estresse de contenção no frio sobre os comportamentos relacionados a ansiedade e depressão em duas linhagens de camundongos fêmeas, Swiss e C57BL/6J**. 2013. 82f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, 2013.

MARCO, E. M. et al. Long-term effects of intermittent adolescent alcohol exposure in male and female rats. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 11, 2016.

MARCO, E. M. et al. The maternal deprivation animal model revisited. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 51, p. 151–163, 2015.

- MARIEB, E. N.; HOEHN, K. **Anatomia e Fisiologia**. Artmed, 3ª edição, 2009.
- MARIN, M. T.; CRUZ, F. C.; PLANETA, C. S. Chronic restraint or variable stresses differently affect the behavior, corticosterone secretion and body weight in rats. **Physiology & Behavior**, v. 90, n. 1, p. 29–35, 2007.
- MARINELLI, P. W.; QUIRION, R.; GIANOULAKIS, C. A microdialysis profile of  $\beta$ -endorphin and catecholamines in the rat nucleus accumbens following alcohol administration. **Psychopharmacology**, v. 169, n. 1, p. 60-67, 2003.
- MARINELLI, S. et al. Presynaptic facilitation of glutamatergic synapses to dopaminergic neurons of the rat substantia nigra by endogenous stimulation of vanilloid receptors. **Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 8, p. 3136–3144, 2003.
- MARKOVIĆ, B. et al. Long-term effects of maternal deprivation on cholinergic system in rat brain. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.
- MATSUZAWA, S.; SUZUKI, T.; MISAWA, M. Conditioned fear stress induces ethanol-associated place preference in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 341, n. 2-3, p. 127–130, 1998.
- MATSUZAWA, S.; SUZUKI, T.; MISAWA, M. Ethanol, but not the anxiolytic drugs buspirone and diazepam, produces a conditioned place preference in rats exposed to conditioned fear stress. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 65, n. 2, p. 281-8, 2000.
- MAURAGE, P. et al. Cerebral effects of binge drinking: respective influences of global alcohol intake and consumption pattern. **Clinical Neurophysiology**, v. 123, n. 5, p. 892-901, 2012.
- MCCBRIDE, W. J. et al. Serotonin mechanisms in alcohol drinking behavior. **Drug Development Research**, v. 30, n. 3, p. 170–177, 1993.
- MCCRORY, E.; DE BRITO, S. A.; VIDING, E. The impact of childhood maltreatment: a review of neurobiological and genetic factors. **Frontiers in Psychiatry**, v. 2, p. 48, 2011.
- MCEWEN, B. S. Sex, stress and the hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. **Neurobiology of Aging**, v. 23, n. 5, p. 921–939, 2002.
- MCEWEN, B. S. Stress, adaptation, and disease: allostasis and allostatic load. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 840, n. 1, p. 33–44, 1998.
- MEANEY, M. J. et al. Cellular mechanisms underlying the development and expression of individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 39, p.265-274, 1991.

- MEANEY, M. J. et al. Early environmental regulation of forebrain glucocorticoid receptor gene expression: implications for adrenocortical responses to stress. **Developmental Neuroscience**, v. 18, p.49–72, 1996.
- MEANEY, M. J. et al. Early postnatal handling alters glucocorticoid receptor concentrations in selected brain regions. **Behavioral Neuroscience**, v. 99, n. 4, p. 765, 1985.
- MEANEY, M. J. et al. Effect of neonatal handling on age-related impairments associated with the hippocampus. **Science**, v. 239, n. 4841, p. 766–768, 1988.
- MEANEY, M. J. et al. Molecular basis for the development of individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 13, n. 4, p. 321–347, 1993.
- MEANEY, M. J. et al. Neonatal handling alters adrenocortical negative feedback sensitivity and hippocampal type II glucocorticoid receptor binding in the rat. **Neuroendocrinology**, v. 50, n. 5, p. 597–604, 1989.
- MEANEY, M. J.; BRAKE, W.; GRATTON, A. Environmental regulation of the development of mesolimbic dopamine systems: a neurobiological mechanism for vulnerability to drug abuse? **Psychoneuroendocrinology**, v. 27, n. 1, p. 127–138, 2002.
- MEANEY, M.J. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. **Annual Review of Neuroscience**, v.24, p.1161–1192, 2001.
- MEISCH, Richard A. et al. Effects of substituting ethanol solutions for water during schedule-induced polydipsia: initial results. 1970.
- MEISCH, Richard A.; THOMPSON, Travis. Ethanol intake during schedule-induced polydipsia. **Physiology & Behavior**, v. 8, n. 3, p. 471-475, 1972.
- MELLO, A. A. F. et al. Update on stress and depression: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 25, n. 4, p. 231–238, 2003.
- MICZEK, K. A.; YAP, J. J.; COVINGTON III, H. E. Social stress, therapeutics and drug abuse: preclinical models of escalated and depressed intake. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 120, n. 2, p. 102–128, 2008.
- MILLER, D. B.; O'CALLAGHAN, J. P. Neuroendocrine aspects of the response to stress. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 51, n. 6, p. 5–10, 2002.
- MOFFETT, M. C. et al. Maternal separation alters drug intake patterns in adulthood in rats. **Biochemical Pharmacology**, v. 73, n. 3, p. 321–330, 2007.
- MOLET, J. et al. Naturalistic rodent models of chronic early-life stress. **Developmental Psychobiology**, v. 56, n. 8, p. 1675–1688, 2014.

MORAIS-SILVA, G. et al. Concomitant stress potentiates the preference for, and consumption of, ethanol induced by chronic pre-exposure to ethanol. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 49, n. 1, 2016.

MORALES, M.; VARLINSKAYA, E. I.; SPEAR, L. P. Evidence for conditioned place preference to a moderate dose of ethanol in adult male Sprague–Dawley rats. **Alcohol**, v. 46, n. 7, p. 643–648, 2012.

MORAN-SANTA MARIA, M.M.; FLANAGAN, J.; BRADY, K. Ovarian hormones and drug abuse. **Current Psychiatry Reports**, v. 16, n. 11, p. 511, 2014.

MOREIRA-SILVA, D. et al. Stress abolishes the effect of previous chronic ethanol consumption on drug place preference and on the mesocorticolimbic brain pathway. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 38, n. 5, p. 1227-1236, 2014.

MUMENTHALER, M. S. et al. Effects of menstrual cycle and female sex steroids on ethanol pharmacokinetics. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 23, n. 2, p. 250–255, 1999a.

MUMENTHALER, M. S. et al. Gender differences in moderate drinking effects. **Alcohol Research and Health**, v. 23, n. 1, p. 55–64, 1999b.

MUNCK, A.; GUYRE, P. M.; HOLBROOK, N. J. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. **Endocrine Reviews**, v. 5, n. 1, p. 25–44, 1984.

MURGATROYD, C.; SPENGLER, D. Epigenetic programming of the HPA axis: early life decides. **Stress**, v. 14, n. 6, p. 581–589, 2011.

NESTLER, E. J. Is there a common molecular pathway for addiction? **Nature Neuroscience**, v. 8, n. 11, p. 1445, 2005.

NESTLER, E. J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 2, p. 119, 2001.

NEWPORT, J. D.; STOWED, Z. N.; NEMEROFF, C. B. Parental depression: animal models of an adverse life event. **The American Journal of Psychiatry**, v. 159, p.1265-1283, 2002.

NEWTON, P. M. et al. A blocker of N-and T-type voltage-gated calcium channels attenuates ethanol-induced intoxication, place preference, self-administration, and reinstatement. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 45, p. 11712-11719, 2008.

NIAAA – National Institute on Alcohol and Alcoholism. Helping patients who drink too much: a clinician’s guide, **National Institute on Alcohol and Alcoholism**. 2005. Disponível em: <[pubs.niaaa.nih.gov/publications/Practitioner/CliniciansGuide2005/guide .pdf](http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/Practitioner/CliniciansGuide2005/guide.pdf)>

- NOSCHANG, C. et al. Neonatal handling affects learning, reversal learning and antioxidant enzymes activities in a sex-specific manner in rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v.30, n.4, p.285–291, 2012.
- NYLANDER, I.; ROMAN, E. Is the rodent maternal separation model a valid and effective model for studies on the early-life impact on ethanol consumption? **Psychopharmacology**, v. 229, n. 4, p. 555–569, 2013.
- NYLANDER, I.; ROMAN, E. Neuropeptides as mediators of the early-life impact on the brain; implications for alcohol use disorders. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v.5, p.77, 2012.
- O'BRIEN, C. P. et al. Classical conditioning in drug-dependent humans. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 654, n. 1, p. 400–415, 1992.
- O'DONNELL, D. et al. Postnatal handling alters glucocorticoid, but not mineralocorticoid messenger RNA expression in the hippocampus of adult rats. **Molecular Brain Research**, v. 26, n. 1–2, p. 242–248, 1994.
- OGAWA, T. et al. Periodic maternal deprivation alters stress response in adult offspring: potentiates the negative feedback regulation of restraint stress-induced adrenocortical response and reduces the frequencies of open field-induced behaviors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 49, n. 4, p. 961-967, 1994.
- OLIVE, M. F. et al. Stimulation of endorphin neurotransmission in the nucleus accumbens by ethanol, cocaine, and amphetamine. **Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 23, p. RC184–RC184, 2001.
- ORELAND, S. et al. Two repeated maternal separation procedures differentially affect brain 5-hydroxytryptamine transporter and receptors in young and adult male and female rats. **Brain Research**, v. 1305 Suppl, p. S37-49, 11 dez. 2009.
- OZAWA, S.; KAMIYA, H.; TSUZUKI, K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. **Progress in Neurobiology**, v. 54, n. 5, p. 581–618, 1998.
- PACE, T. W. et al. Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 9, p. 1630–1633, 2006.
- PALM, S. et al. Effects of rearing conditions on behaviour and endogenous opioids in rats with alcohol access during adolescence. **PloS One**, v. 8, n. 10, p. e76591, 2013.
- PARADA, M.; CORRAL, M.; MOTA, N. et al. Executive functioning and alcohol binge drinking in university students. **Addictive Behaviors**, v. 37, n. 2, p. 167-172, 2012.

- PASCUAL, María et al. Changes in histone acetylation in the prefrontal cortex of ethanol-exposed adolescent rats are associated with ethanol-induced place conditioning. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 7, p. 2309-2319, 2012.
- PAUTASSI, R. M. et al. Effects of environmental enrichment upon ethanol-induced conditioned place preference and pre-frontal BDNF levels in adolescent and adult mice. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 8574, 2017.
- PAUTASSI, R. M.; MIRANDA-MORALES, R. S.; NIZHNIKOV, M. Operant self-administration of ethanol in infant rats. **Physiology & Behavior**, v. 148, p. 87-99, 2015.
- PAVLOV, I. P. Conditional reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. 1927.
- PECIÑA, S.; BERRIDGE, K. C. Hedonic hot spot in nucleus accumbens shell: where do  $\mu$ -opioids cause increased hedonic impact of sweetness? **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 50, p. 11777-11786, 2005.
- PEÑASCO, S. et al. Early maternal deprivation enhances voluntary alcohol intake induced by exposure to stressful events later in life. **Neural Plasticity**, v. 2015, 2015.
- PEREIRA, E. L. A.; SENA, E. P.; OLIVEIRA, I. R. Farmacologia do álcool etílico. Tratamento farmacológico do alcoolismo. In: Silva, P. **Farmacologia**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 351-357.
- PETIT, G.; MAURAGE, P.; KORNREICH, C. et al. Binge drinking in adolescents: a review of neurophysiological and neuroimaging research. **Alcohol and Alcoholism**, v. 49, n. 2, p. 198-206, 2013.
- PHILPOT, R. M.; BADANICH, K. A.; KIRSTEIN, C. L. Place conditioning: age-related changes in the rewarding and aversive effects of alcohol. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 27, n. 4, p. 593-599, 2003.
- PIANO, M. R.; CARRIGAN, T. M.; SCHWERTZ, D. W. Sex differences in ethanol liquid diet consumption in Sprague-Dawley rats. **Alcohol**, v. 35, n. 2, p. 113-118, 2005.
- PIAZZA, P. V.; LE MOAL, M. Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse: role of an interaction between stress, glucocorticoids, and dopaminergic neurons. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 36, n. 1, p. 359-378, 1996.
- PIAZZA, P. V.; LE MOAL, M. The role of stress in drug self-administration. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 19, n. 2, p. 67-74, 1998.
- PLANETA, C. S. Animal models of alcohol and drug dependence. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35, p. S140-S146, 2013.

- PLOJ, K.; ROMAN, E.; NYLANDER, I. Long-term effects of maternal separation on ethanol intake and brain opioid and dopamine receptors in male Wistar rats. **Neuroscience**, v. 121, n. 3, p. 787–799, 2003.
- PLOTSKY, P. M. et al. Long-term consequences of neonatal rearing on central corticotropin-releasing factor systems in adult male rat offspring. **Neuropsychopharmacology**, v. 30, n. 12, p. 2192, 2005.
- PLOTSKY, P.M.; MEANEY, M.J. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. **Brain Research. Molecular Brain Research**, v. 18, n. 3, p.195–200. 1993.
- POHORECKY, L. A. Interaction of ethanol and stress: research with experimental animals - an update. **Alcohol and Alcoholism**, v. 25, n. 2-3, p. 263–276, 1990.
- POHORECKY, L. A. Stress and alcohol interaction: an update of human research. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 15, n. 3, p. 438–459, 1991.
- POHORECKY, L. A. The interaction of alcohol and stress a review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 5, n. 2, p. 209-229, 1981.
- PRENDERGAST, B.J.; ONISHI, K. G.; ZUCKER, I. Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 40, p. 1-5, 2014.
- PRIDDY, B. M. et al. Sex, strain, and estrous cycle influences on alcohol drinking in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 152, p. 61-67, 2017.
- PRYCE, C. R.; BETTSCHEN, D.; FELDON, J. Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. **Developmental Psychobiology**, v. 38, p.239-251, 2001.
- PRYCE, C. R.; FELDON, J. Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations, effects and mediating mechanisms. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1–2, p. 57–71, 2003.
- RAEDER, H. et al. Expression of N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor subunits and splice variants in an animal model of long-term voluntary alcohol self-administration. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 96, n. 1-2, p. 16-21, 2008.
- RANA, S. et al. Inborn stress reactivity shapes adult behavioral consequences of early-life maternal separation stress. **Neuroscience Letters**, v. 584, p. 146–150, 2015.
- REHM, J. et al. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol-use disorders. **The Lancet**, v. 373, n. 9682, p. 2223–2233, 2009.

RENARD, G. M.; RIVAROLA, M. A.; SUÁREZ, M. M. Sexual dimorphism in rats: effects of early maternal separation and variable chronic stress on pituitary-adrenal axis and behavior. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 25, n. 6, p. 373–379, 2007.

RIVIER, C. Female rats release more corticosterone than males in response to alcohol: influence of circulating sex steroids and possible consequences for blood alcohol levels. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 17, n. 4, p. 854–859, 1993.

ROBERTS, A. J.; LESSOV, C. N.; PHILLIPS, T. J. Critical role for glucocorticoid receptors in stress-and ethanol-induced locomotor sensitization. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 275, n. 2, p. 790–797, 1995.

ROBINSON, T. E.; BERRIDGE, K. C. Addiction. **Annual Review of Psychology**, v. 54, p. 25-53, 2003.

ROBINSON, T. E.; BERRIDGE, K. C. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. **Brain Research Reviews**, v. 18, n. 3, p. 247- 291, 1993.

ROGER-SÁNCHEZ, C. et al. Age-and sex-related differences in the acquisition and reinstatement of ethanol CPP in mice. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 34, n. 1, p. 108–115, 2012.

ROMAN, E. et al. Behavioral profiles and stress-induced corticosteroid secretion in male Wistar rats subjected to short and prolonged periods of maternal separation. **Hormones and Behavior**, v. 50, n.5, p.736-47, 2006.

ROMAN, E. et al. Short and prolonged periods of maternal separation and voluntary ethanol intake in male and female ethanol-preferring aa and ethanol-avoiding ana rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 29, n. 4, p. 591–601, 2005.

ROMAN, E.; HYYTIÄ, P.; NYLANDER, I. Maternal separation alters acquisition of ethanol intake in male ethanol-preferring aa rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 27, n. 1, p. 31–37, 2003.

ROMAN, E.; NYLANDER, I. The impact of emotional stress early in life on adult voluntary ethanol intake-results of maternal separation in rats. **Stress**, v. 8, n. 3, p. 157-174, 2005.

ROMAN, E.; PLOJ, K.; NYLANDER, I. Maternal separation has no effect on voluntary ethanol intake in female Wistar rats. **Alcohol**, v. 33, p. 31–39, 2004.

ROSSETTI, Z. L.; CARBONI, S. Ethanol withdrawal is associated with increased extracellular glutamate in the rat striatum. **European Journal of Pharmacology**, v. 283, n. 1–3, p. 177–183, 1995.

RUSSELL, J. A.; MEHRABIAN, A. The mediating role of emotions in alcohol use. **Journal of Studies on Alcohol**, v. 36, n. 11, p. 1508–1536, 1975.

RYU, V. et al. Post-weaning isolation promotes food intake and body weight gain in rats that experienced neonatal maternal separation. **Brain Research**, v.1295, p.127–134, 2009.

SAMSON, H. H. et al. Comparison of alcohol-preferring and nonpreferring selectively bred rat lines. I. Ethanol initiation and limited access operant self-administration. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 22, n. 9, p. 2133-2146, 1998.

SANCHEZ, M. M.; LADD, C. O.; PLOTSKY, P. M. Early adverse experience as a developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models. **Development and Psychopathology**, v. 13, n. 3, p. 419–449, 2001.

SANCHIS-SEGURA, C.; SPANAGEL, R. Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. **Addiction Biology**, v. 11, n. 1, p. 2–38, 2006.

SAPOLSKY, R. M. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. **Archives of General Psychiatry**, v. 57, n. 10, p. 925–935, 2000.

SAPOLSKY, R.M., MEANEY, M.J. Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period. **Brain Research**, v. 396, p. 64-76, 1986.

SCHMIDT, M. et al. The dynamics of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during maternal deprivation. **Journal of Neuroendocrinology**, v.16, p.52-57, 2004.

SECRETARIA NACIONAL DE POLÍTICAS SOBRE DROGA– **SENAD. I Levantamento nacional sobre os padrões de consumo de etanol na população brasileira**. Brasília, DF 2007. Disponível em: <<http://www.senad.gov.br>>. Acesso em: 20 de outubro de 2016.

SECRETARIA NACIONAL DE POLÍTICAS SOBRE DROGAS – **SENAD**, Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas – CEBRID. VI Levantamento Nacional sobre o Consumo de Drogas Psicotrópicas entre Estudantes do Ensino Fundamental e Médio das Redes Pública e Privada de Ensino nas 27 Capitais Brasileiras. 25 p, 2010.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse noxious agents. **Nature**, v. 138, n. 3479, p. 32, 1936.

SEYLE, H. **The Stress of Life**. New York: McGrawHill, 1956.

SHAMSEDDEEN, W. et al. Impact of physical and sexual abuse on treatment response in the Treatment of Resistant Depression in Adolescent Study (TORDIA). **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 50, n. 3, p. 293–301, 2011.

SHEN, L.-H.; LIAO, M.-H.; TSENG, Y.-C. Recent advances in imaging of dopaminergic neurons for evaluation of neuropsychiatric disorders. **BioMed Research International**, v. 2012, 2012.

SHERMAN, J. E. et al. Preferences and aversions for stimuli paired with ethanol in hungry rats. **Animal Learning & Behavior**, v. 11, n. 1, p. 101–106, 1983.

SHIELD, K. D.; PARRY, C.; REHM, J. Chronic diseases and conditions related to alcohol use. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 35, n. 2, p. 155, 2013.

SHIMIZU, C. et al. Factors affecting ethanol-induced conditioned place preference and locomotor sensitization in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 1935–1945, 2015.

SHIPPENBERG, T. S.; KOOB, G. F. Recent advances in animal models of drug addiction and alcoholism. **Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress**, p. 97-1381, 2002.

SIEGMUND, S. et al. Influence of age at drinking onset on long-term ethanol self-administration with deprivation and stress phases. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 29, n. 7, p. 1139–1145, 2005.

SILVEIRA, P. P. et al. The effect of neonatal handling on adult feeding behavior is not an anxiety-like behavior. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 23, n. 1, p. 93–99, 2005.

SIMMS, J. A. et al. Intermittent access to 20% ethanol induces high ethanol consumption in Long-Evans and Wistar rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 32, n. 10, p. 1816-1823, 2008.

SIMPSON, J.; KELLY, J. P. An investigation of whether there are sex differences in certain behavioural and neurochemical parameters in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 229, n. 1, p. 289–300, 2012.

SINHA, R. Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1141, n. 1, p. 105–130, 2008.

SINHA, R. How does stress increase risk of drug abuse and relapse? **Psychopharmacology**, v. 158, n. 4, p. 343-59, 2001.

SMITH, J. E.; CO, C.; MCINTOSH, S.; CUNNINGHAM, C. C. Chronic binge-like moderate ethanol drinking in rats results in widespread decreases in brain serotonin, dopamine, and norepinephrine turnover rates reversed by ethanol intake. **Journal of Neurochemistry**, v. 105, n. 6, p. 2134-2155, 2008.

SMITH, M. A. et al. Maternal deprivation and stress induce immediate early genes in the infant rat brain. **Endocrinology**, v. 138, n. 11, p. 4622–4628, 1997.

SÖDERPALM, A. H.; WIT, H. Effects of stress and alcohol on subjective state in humans. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 26, n. 6, p. 818–826, 2002.

SONG, M. et al. Role of stress in acquisition of alcohol-conditioned place preference in adolescent and adult mice. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 31, n. 12, p. 2001–2005, 2007.

SPANAGEL, R. Alcoholism: a systems approach from molecular physiology to addictive behavior. **Physiological Reviews**, v. 89, n. 2, p. 649–705, 2009.

SPANAGEL, R. Recent animal models of alcoholism. **Alcohol Research & Health**, v.24, n. 2, p.124-31, 2000.

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

SPEAR, L. P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 4, p. 417–463, 2000.

SPEAR, L. P.; VARLINSKAYA, E. I. Sensitivity to ethanol and other hedonic stimuli in an animal model of adolescence: implications for prevention science? **Developmental Psychobiology**, v. 52, n. 3, p. 236–243, 2010.

STEPHENS, D. N.; DUKA, T. Cognitive and emotional consequences of binge drinking: role of amygdala and prefrontal cortex. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 363, n. 1507, p. 3169-3179, 2008.

STERN, J. M.; JOHNSON, S. K. Ventral somatosensory determinants of nursing behavior in Norway rats. I. Effects of variations in the quality and quantity of pup stimuli. **Physiology & Behavior**, v. 47, n. 5, p. 993–1011, 1990.

STOCK, A. K.; BESTE, C. Binge drinking and the differential influence of ethanol on cognitive control subprocesses: a novel field of neurotoxicology. **Archives of Toxicology**, v. 88, n. 1, p. 9-10, 2014.

SVOBODA, M. et al. Relative quantitative analysis of glucagon receptor mRNA in rat tissues. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 105, n. 2, p. 131-137, 1994.

TABAKOFF, B.; HOFFMAN, P. L. Animal models in alcohol research. **Alcohol Research & Health**, Denver, v. 24, n. 2, p.77-84, 2000.

TAKAHASHI, H. et al. Effects of nicotine and footshock stress on dopamine release in the striatum and nucleus accumbens. **Brain Research Bulletin**, v. 45, n. 2, p. 157–162, 1998.

TARAZI, F. I.; BALDESSARINI, R. J. Comparative postnatal development of dopamine D1, D2 and D4 receptors in rat forebrain. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 29–37, 2000.

TARAZI, F. I.; TOMASINI, E. C.; BALDESSARINI, R. J. Postnatal development of dopamine D4-like receptors in rat forebrain regions: comparison with D2-like receptors. **Developmental Brain Research**, v. 110, n. 2, p. 227–233, 1998.

TARAZI, F. I.; TOMASINI, E. C.; BALDESSARINI, R. Postnatal development of dopamine D1-like receptors in rat cortical and striatolimbic brain regions: an autoradiographic study. **Developmental Neuroscience**, v. 21, n. 1, p. 43–49, 1999.

TEICHER, M. H. Wounds that time won't heal: The neurobiology of child abuse. **Cerebrum**, v. 2, n. 4, p. 50–67, 2000.

TEICHER, M. H.; ANDERSEN, S. L.; HOSTETTER JR, J. C. Evidence for dopamine receptor pruning between adolescence and adulthood in striatum but not nucleus accumbens. **Developmental Brain Research**, v. 89, n. 2, p. 167–172, 1995.

TER HORST, J. P. et al. Relevance of stress and female sex hormones for emotion and cognition. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 32, n. 5, p. 725-735, 2012.

TING-KAI, U.; LUMENG, L. Alcohol preference and voluntary alcohol intakes of inbred rat strains and the National Institutes of Health heterogeneous stock of rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 8, n. 5, p. 485–486, 1984.

TORRES, O. V. et al. Female rats display enhanced rewarding effects of ethanol that are hormone dependent. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 38, n. 1, p. 108–115, 2014.

TRAYNELIS, S. F. et al. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. **Pharmacological Reviews**, v. 62, n. 3, p. 405-496, 2010.

TRESSERRA, M. et al. Maternal separation increases alcohol-drinking behaviour and reduces endocannabinoid levels in the mouse striatum and prefrontal cortex. **European Neuropsychopharmacology**, v. 28, n. 4, p. 499–512, 2018.

TRUXELL, E. M.; MOLINA, J. C.; SPEAR, N. E. Ethanol intake in the juvenile, adolescent, and adult rat: effects of age and prior exposure to ethanol. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 31, n. 5, p. 755–765, 2007.

UNGETHÜM, U. et al. Effects of perinatal asphyxia on the mesostriatal/mesolimbic dopamine system of neonatal and 4-week-old male rats. **Experimental Brain Research**, v. 112, n. 3, p. 403–410, 1996.

UNODC (United Nations Office on Drugs and Crime). World Drug Report 2012. Disponível em: <[https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR\\_2012\\_web\\_small.pdf](https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR2012/WDR_2012_web_small.pdf)>. Acesso em: 10 de setembro de 2017.

- VALDEZ, G. R. et al. Increased ethanol self-administration and anxiety-like behavior during acute ethanol withdrawal and protracted abstinence: regulation by corticotropin-releasing factor. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 26, n. 10, p. 1494-501, 2002.
- VALLEE, M. et al. Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress induced corticosterone secretion. **Journal of Neuroscience**, v. 17, p. 2626-36, 1997.
- VAN DE KAR, L. D.; BLAIR, M. L. Forebrain pathways mediating stress-induced hormone secretion. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 20, n. 1, p. 1-48, 1999.
- VAN HAAREN, F.; ANDERSON, K. Sex differences in schedule-induced alcohol consumption. **Alcohol**, v. 11, n. 1, p. 35-40, 1994.
- VAN PETT, K. et al. Distribution of mRNAs encoding CRF receptors in brain and pituitary of rat and mouse. **Journal of Comparative Neurology**, v. 428, n. 2, p. 191-212, 2000.
- VENGELIENE, V. et al. A comparative study on alcohol-preferring rat lines: effects of deprivation and stress phases on voluntary alcohol intake. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 27, n. 7, p. 1048-1054, 2003.
- VETTER-O'HAGEN, C.; VARLINSKAYA, E.; SPEAR, L. Sex differences in ethanol intake and sensitivity to aversive effects during adolescence and adulthood. **Alcohol & Alcoholism**, v. 44, n. 6, p. 547-554, 2009.
- VIAU, V. et al. Increased plasma ACTH responses to stress in nonhandled compared with handled rats require basal levels of corticosterone and are associated with increased levels of ACTH secretagogues in the median eminence. **Journal of Neuroscience**, v. 13, n. 3, p. 1097-1105, 1993.
- VIVEROS, M. P. et al. Sex-dependent alterations in response to maternal deprivation in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, p. S217-S226, 2009.
- VIVEROS, M.P. et al. Maternal deprivation induces a rapid decline in circulating leptin levels and sexually dimorphic modifications in hypothalamic trophic factors and cell turnover. **Hormones and Behavior**, v.57, p.405-414, 2010.
- VOLKOW, N. D. et al. Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 20, n. 9, p. 1594-1598, 1996.
- WACKER, J.; CHAVANON, M.-L.; STEMMLER, G. Investigating the dopaminergic basis of extraversion in humans: A multilevel approach. **Journal of Personality and Social Psychology**, v. 91, n. 1, p. 171, 2006.
- WAGNER, G.A.; ANDRADE, A.G. Uso de etanol, tabaco e outras drogas entre estudantes universitários brasileiros. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 35, n. 1, p.48-54, 2008.

WAHLSTROM, D. et al. Developmental changes in dopamine neurotransmission in adolescence: behavioral implications and issues in assessment. **Brain and Cognition**, v. 72, n. 1, p. 146–159, 2010.

WANG, B. et al. Cocaine experience establishes control of midbrain glutamate and dopamine by corticotropin-releasing factor: a role in stress-induced relapse to drug seeking. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 22, p. 5389–5396, 2005.

WEISS, F. et al. Ethanol self-administration restores withdrawal-associated deficiencies in accumbal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in dependent rats. **Journal of Neuroscience**, v. 16, n. 10, p. 3474–3485, 1996.

WIGGER, A.; NEUMANN, I. D. Periodic maternal deprivation induces gender-dependent alterations in behavioral and neuroendocrine responses to emotional stress in adult rats. **Physiology & Behavior**, v. 66, n. 2, p. 293–302, 1999.

WILL, M. J.; WATKINS, L. R.; MAIER, S. F. Uncontrollable stress potentiates morphine's rewarding properties. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 60, n. 3, p. 655–664, 1998.

WILLING, J.; JURASKA, J.M. The timing of neuronal loss across adolescence in the medial prefrontal cortex of male and female rats. **Neuroscience**, v. 301, p. 268–275, 2015.

WISE, R. A. Catecholamine theories of reward: a critical review. **Brain Research**, v. 152, n. 2, p. 215–247, 1978.

WISE, R. A.; BOZARTH, M. A. A psychomotor stimulant theory of addiction. **Psychological Review**, Washington, v.94, p.469-492, 1987.

WITT, E. D. Puberty, hormones, and sex differences in alcohol abuse and dependence. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 29, n. 1, p. 81–95, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Status Report on alcohol and health**. Report. 2011. Disponível em: <[http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/global\\_alcohol\\_report/msbgsruprofiles.pdf](http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbgsruprofiles.pdf)>. Acesso em: 02 de setembro de 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Status Report on Alcohol and Health**. Report. Geneva, 2012. Disponível em: <[http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/global\\_alcohol\\_report/msbgsru\\_profiles.pdf](http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbgsru_profiles.pdf)>. Acesso em: 02 de setembro de 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on alcohol and health**. Report. Geneva. 2014. Disponível em: <[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/978924069276\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/978924069276_eng.pdf)>. Acesso em: 04 de setembro de 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World health statistics 2016: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals**. 2016. Disponível em:

<[http://www.who.int/gho/publications/world\\_health\\_statistics/EN\\_WHS2016\\_Full.pdf](http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS2016_Full.pdf)>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; WORLD HEALTH ORGANIZATION. MANAGEMENT OF SUBSTANCE ABUSE UNIT. **Global status report on alcohol and health, 2018**. World Health Organization, 2014.

XAVIER, P.P.S. **Avaliação do impacto de eventos neonatais sobre as adaptações ao estresse crônico de ratos adultos**. 2017. 87 f. Mestre (Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2017.

XU, M.; SMOTHERS, C. T.; WOODWARD, J. J. Effects of ethanol on phosphorylation site mutants of recombinant N-methyl-d-aspartate receptors. **Alcohol**, v. 45, n. 4, p. 373-380, 2011.

YOSHIMOTO, K. et al. Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. **Alcohol**, v. 9, n. 1, p. 17–22, 1991.

ZALD, D. H. et al. Midbrain dopamine receptor availability is inversely associated with novelty-seeking traits in humans. **Journal of Neuroscience**, v. 28, n. 53, p. 14372–14378, 2008.

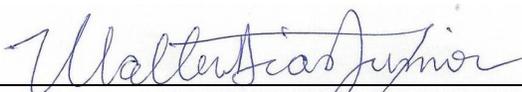
**PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO ATENDIMENTO DE  
PENDÊNCIA DO PROTOCOLO N°. 008/2016**

<b>I - Identificação:</b>
<b>1. Título do projeto:</b> Influência do estresse neonatal e pós-natal sobre parâmetros comportamentais de ansiedade, depressão, memória e dependência ao etanol em ratos Wistar.
<b>2. Pesquisador Responsável:</b> Vanessa Cristiane de Santana Amaral
<b>3. Unidade/Órgão do pesquisador:</b> CCET Anápolis
<b>4. Pesquisadores Participantes:</b> Kamila Souto Leichtweis – mestranda Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde (CAPS) Manuella Machado Godoi – iniciação científica voluntária.
<b>5. Unidade onde será realizado o projeto:</b> CCET Anápolis
<b>6. Data de apresentação a CEUA:</b> 28/10/2016
<b>7. Data de Atendimento das Pendências:</b> 05/12/2016
<b>II - Parecer da CEUA:</b>
<p style="text-align: center;">Informamos que a <i>Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA</i> da Universidade Estadual de Goiás, após análise das adequações solicitadas, considerou <b>APROVADO</b>, o projeto acima referido, o qual foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes, smj dessa Comissão.</p>

O pesquisador responsável deverá encaminhar à CEUA/UEG, relatórios da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões) após sua conclusão. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar à CEUA-PrP-UEG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para **conclusão em 30/03/2019.**

**VI - Data da reunião:**

Reunião realizada no dia: 13/03/2017



**Prof. Dr. Walter  
Dias Júnior**

Coordenador da  
CEUA/UEG