

GIANNA PIGATTO

**EFEITO DA SENSIBILIZAÇÃO PRÉVIA SOBRE O CONSUMO DE ETANOL
EM UM MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO DE ETANOL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas – Farmacologia, Setor de
Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná,
como requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Biológicas – Farmacologia.

Orientadora: Dr.^a Roseli Boerngen de Lacerda

CURITIBA

2004

GIANNA PIGATTO

**EFEITO DA SENSIBILIZAÇÃO PRÉVIA SOBRE O CONSUMO DE ETANOL
EM UM MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO DE ETANOL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – Farmacologia.

Orientadora: Dr.^a Roseli Boerngen de Lacerda

CURITIBA

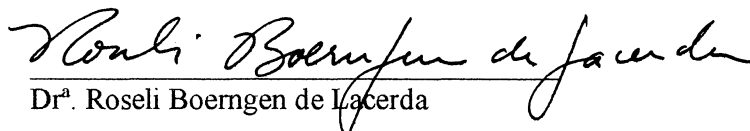


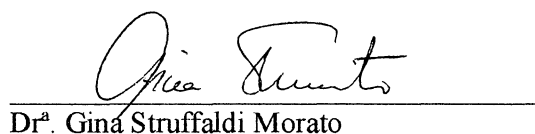
Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia



PARECER

A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado : **“EFEITO DA SENSIBILIZAÇÃO PRÉVIA SOBRE O CONSUMO DE ETANOL EM UM MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO DE ETANOL”**, de autoria da Pós-Graduanda em Farmacologia **GIANNA PIGATTO**, e composta pelos Professores Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda (UFPR); Dr^a. Gina Struffaldi Morato (UFSC), Dr^a. Miriam Elizabeth Mendes Angelucci (UFPR). De acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a Pós-Graduanda foi APROVADA. Para a devida publicação o trabalho deve sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas pela orientadora. Em Curitiba, 26 de fevereiro de 2004.


Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda

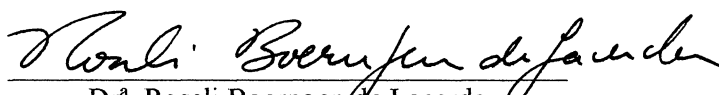

Dr^a. Gina Struffaldi Morato


Dr^a. Miriam Elizabeth Mendes Angelucci

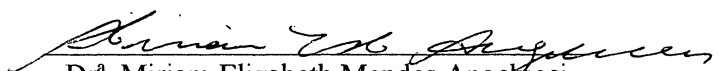


ATA DO JULGAMENTO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ao vigésimo sexto dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e quatro, às 14:00 horas, no anfiteatro 07 (sete) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, reuniu-se a Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado de autoria da Pós-Graduanda em Farmacologia, **GIANNA PIGATTO**, intitulada: “Efeito da Sensibilização Prévia Sobre o Consumo de Etanol em um Modelo de Auto-Administração de Etanol”, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda, e composta pelos professores: Dr^a. Gina Struffaldi Morato (UFSC), e Dr^a. Miriam Elizabeth Mendes Angelucci (UFPR). A Banca Examinadora iniciou os trabalhos. A candidata teve quarenta e cinco minutos para expor oralmente seu trabalho, sendo em seguida argüida durante quinze minutos por cada um dos membros da Banca, e tendo trinta minutos para responder a cada uma das arguições. No final a Comissão Examinadora emitiu o seguinte parecer: APROVADA. De acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a Pós-Graduanda foi APROVADA. Para a publicação o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas por sua orientadora. Nada mais havendo a tratar, a Presidente deu por encerrada a sessão, da qual foi lavrada a presente ata, que será assinada pelo Presidente e pelos demais Membros da Banca Examinadora, em Curitiba, 26 de fevereiro de 2004.


Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda


Dr^a. Gina Struffaldi Morato


Dr^a. Miriam Elizabeth Mendes Angelucci

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Percy e Genira, e meus irmãos, Gessuir e Priscila, pelo amor e carinho, pelas palavras de incentivo, por serem a base segura que me permite ousar e realizar.

Ao meu namorado Anderson, por todo o seu carinho, compreensão e auxílio.

À Professora Roseli, por seus ensinamentos e sua paciência, por ser, além de orientadora, uma grande amiga.

Aos colegas de mestrado, pelas horas de estudo e de diversão.

Às colegas e amigas, Francine e Andrea, pelos sábados e domingos no Laboratório 99.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Farmacologia que colaboraram para o aumento de meus conhecimentos e realização deste trabalho.

Aos animais.

Á Deus.

“Não está na natureza das coisas que o homem realize um descobrimento súbito e inesperado; a ciência avança passo a passo e cada homem depende do trabalho dos seus predecessores”.

(Sir Ernest Rutherford)

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1.0 INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Mecanismo de ação do etanol.....	02
1.2 Dependência de etanol.....	07
1.3 Teoria de incentivo-sensibilização da dependência.....	10
2.0 HIPÓTESE.....	14
3.0 OBJETIVOS.....	15
3.1 Objetivo geral.....	15
3.2 Objetivos específicos.....	15
4.0 METODOLOGIA.....	16
4.1 Animais.....	16
4.2 Drogas.....	16
4.3 Aparelhos.....	17
4.3.1 Caixa de movimentação espontânea (CME).....	17
4.3.2 Labirinto em cruz elevado (LCE).....	18
4.3.3 Campo aberto (CA).....	19
4.4 Procedimento.....	20
4.4.1 Experimento 1: Desenvolvimento de sensibilização comportamental.....	20
4.4.1.1 ESQUEMA I – Experimento 1.....	21
4.4.2 Experimento 2: Modelo de auto-administração de etanol.....	22
4.4.2.1 ESQUEMA II – Experimento 2.....	23
4.4.3 Experimento 3: Testes comportamentais.....	24
4.4.3.1 ESQUEMA III – Experimento 3.....	24
4.4.4 Cálculo da quantidade de etanol consumida (gramas/kilograma/dia).....	25
4.5 Análise estatística.....	25
5.0 RESULTADOS.....	27
5.1 Experimento 1: Desenvolvimento de sensibilização comportamental.....	27
5.2 Experimento 2: Modelo de auto-administração de etanol.....	29
5.2.1 Consumo de etanol.....	29
5.2.1.1 Correlações entre o consumo de etanol nas dez semanas da fase de livre escolha.....	29

5.2.1.2 Consumo de etanol nas fases experimentais de livre escolha e de reapresentação).....	32
5.2.2 Consumo de Água.....	34
5.2.2.1 Correlações entre o consumo de água nas dez semanas da fase de livre escolha.....	34
5.2.2.2 Consumo de água nas fases experimentais de livre escolha, de abstinência e de reapresentação.....	38
5.2.3 Análise da preferência de consumo por etanol ou por água.....	41
5.2.4 Estudo dos padrões individuais de consumo de etanol.....	42
5.2.4.1 Grupo controle da sensibilização (CS).....	43
5.2.4.1.1 Consumidor Leve.....	43
5.2.4.1.2 Consumidor Pesado.....	51
5.2.4.1.3 Consumidor com Recaída.....	54
5.2.4.2 Grupo não sensibilizado (NS).....	57
5.2.4.2.1 Consumidor Leve.....	57
5.2.4.2.2 Consumidor Pesado.....	64
5.2.4.2.3 Consumidor com Recaída.....	67
5.2.4.2.4 Consumidor indefinido.....	69
5.2.4.3 Grupo sensibilizado (S).....	72
5.2.4.3.1 Consumidor Leve.....	72
5.2.4.3.2 Consumidor Pesado.....	78
5.2.4.3.3 Consumidor com Recaída.....	83
5.2.4.3.4 Consumidor indefinido.....	85
5.3 Experimento 3: Testes comportamentais.....	88
5.3.1 Avaliação da ambulação no início e ao término do modelo de auto-administração e o consumo de etanol durante o modelo.....	88
5.3.2 Avaliação comportamental durante a fase de abstinência do modelo de auto-administração de etanol (48 horas após a retirada das soluções de etanol).....	94
5.3.3 Avaliação comportamental ao término do modelo de auto-administração de etanol (24 horas após a retirada das soluções de etanol).....	96
5.3.4 Comparação entre a atividade locomotora apresentada no início e ao término do modelo de auto-administração de etanol.....	98
6.0 DISCUSSÃO.....	100
7.0 CONCLUSÃO.....	111
REFERÊNCIAS.....	112
APÊNDICE.....	ix

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Caixa de Movimentação Espontânea.....	17
FIGURA 2 – Labirinto em Cruz Elevado.....	18
FIGURA 3 – Campo Aberto.....	19
TABELA 1 – Ambulação na caixa de movimentação espontânea.....	27
FIGURA 4 – Ambulação na caixa de movimentação espontânea dos grupos selecionados para o modelo de auto-administração.....	28
TABELA 2 – Correlações entre o consumo de etanol nas dez semanas da fase de livre escolha para o grupo controle da sensibilização.....	29
TABELA 3 – Correlações entre o consumo de etanol nas dez semanas da fase de livre escolha para o grupo não-sensibilizado.....	30
TABELA 4 – Correlações entre o consumo de etanol nas dez semanas da fase de livre escolha para o grupo sensibilizado.....	31
FIGURA 5 - Consumo de etanol durante as fases experimentais.....	33
TABELA 5 – Correlações entre o consumo de água nas dez semanas da fase de livre escolha para o grupo controle do isolamento.....	34
TABELA 6 – Correlações entre o consumo de água nas dez semanas da fase de livre escolha para o grupo controle da sensibilização.....	35
TABELA 7 – Correlações entre o consumo de água nas dez semanas da fase de livre escolha para o grupo não-sensibilizado.....	36
TABELA 8 – Correlações entre o consumo de água nas dez semanas da fase de livre escolha para o grupo sensibilizado.....	37
FIGURA 6 - Consumo de água durante as fases experimentais.....	40
FIGURA 7 - Preferência de consumo por água ou por etanol.....	41
FIGURA 8.1 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G5 (consumidor leve).....	45
FIGURA 8.2 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G8 (consumidor leve).....	46
FIGURA 8.3 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G11 (consumidor leve).....	47
FIGURA 8.4 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G24 (consumidor leve).....	48
FIGURA 8.5 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G25 (consumidor leve).....	49
FIGURA 8.6 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G27 (consumidor leve).....	50
FIGURA 8.7 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G1 (consumidor pesado).....	52

FIGURA 8.8 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G10 (consumidor pesado).....	53
FIGURA 8.9 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G17 (consumidor com recaída).....	56
FIGURA 8.10 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G20 (consumidor com recaída).....	52
FIGURA 9.1 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G2 (consumidor leve).....	59
FIGURA 9.2 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G4 (consumidor leve).....	60
FIGURA 9.3 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G12 (consumidor leve).....	61
FIGURA 9.4 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G13 (consumidor leve).....	62
FIGURA 9.5 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G14 (consumidor leve).....	63
FIGURA 9.6 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G3 (consumidor pesado).....	65
FIGURA 9.7 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G18 (consumidor pesado).....	66
FIGURA 9.8 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G7 (consumidor com recaída).....	68
FIGURA 9.9 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G22 (padrão indefinido).....	70
FIGURA 9.10 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G23 (padrão indefinido).....	71
FIGURA 10.1 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G6 (consumidor leve).....	74
FIGURA 10.2 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G19 (consumidor leve).....	75
FIGURA 10.3 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G21 (consumidor leve).....	76
FIGURA 10.4 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G26 (consumidor leve).....	77
FIGURA 10.5 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G15 (consumidor pesado).....	79
FIGURA 10.6 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G16 (consumidor pesado).....	80
FIGURA 10.7 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G29 (consumidor pesado).....	81

FIGURA 10.8 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G30 (consumidor pesado).....	82
FIGURA 10.9 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G28 (consumidor com recaída).....	84
FIGURA 10.10 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G9 (padrão indefinido).....	86
TABELA 9 – Distribuição de acordo como o padrão de consumo individual.....	87
FIGURA 12 - Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo do grupo controle da sensibilização.....	90
FIGURA 13 - Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo do grupo não-sensibilizado.....	91
FIGURA 14 - Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo do grupo sensibilizado.....	92
FIGURA 15 - Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo do grupo controle do isolamento.....	93
TABELA 10 – Avaliação comportamental após 48 horas da retirada do etanol para os quatro grupos experimentais.....	95
TABELA 11 – Avaliação comportamental após 24 horas do término do modelo de auto-administração para os quatro grupos experimentais.....	97
FIGURA 16 – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea no início e ao término do modelo de auto-administração.....	99

SUMÁRIO APÊNDICE

APÊNDICE 1 – Peso semanal dos animais dos quatro grupos experimentais durante as fases do modelo de auto-administração.....	...117
APÊNDICE 2 – Consumo de líquidos semanal dos animais dos quatro grupos experimentais durante as fases do modelo de auto-administração.....	...118
APÊNDICE 3 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como controle da sensibilização que apresentaram padrão de consumidor leve.....	...119
FIGURA 3: Consumo de etanol e água do animal G5.....	...119
FIGURA 4: Consumo de etanol e água do animal G8.....	...120
FIGURA 5: Consumo de etanol e água do animal G11.....	...121
FIGURA 6: Consumo de etanol e água do animal G24.....	...122
FIGURA 7: Consumo de etanol e água do animal G25.....	...123
FIGURA 8: Consumo de etanol e água do animal G27.....	...124
APÊNDICE 4 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como controle da sensibilização que apresentaram padrão de consumidor pesado.....	...125
FIGURA 9: Consumo de etanol e água do animal G1.....	...125
FIGURA 10: Consumo de etanol e água do animal G10.....	...126
APÊNDICE 5 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como controle da sensibilização que apresentaram padrão de consumidor com recaída.....	...127
FIGURA 11: Consumo de etanol e água do animal G17.....	...127
FIGURA 12: Consumo de etanol e água do animal G20.....	...128
APÊNDICE 6 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como não-sensibilizado que apresentaram padrão de consumidor leve.....	...129
FIGURA 13: Consumo de etanol e água do animal G2.....	...129
FIGURA 14: Consumo de etanol e água do animal G4.....	...130
FIGURA 15: Consumo de etanol e água do animal G12.....	...131
FIGURA 16: Consumo de etanol e água do animal G13.....	...132
FIGURA 17: Consumo de etanol e água do animal G14.....	...133
APÊNDICE 7 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como não-sensibilizado que apresentaram padrão de consumidor pesado.....	...134
FIGURA 18: Consumo de etanol e água do animal G3.....	...134
FIGURA 19: Consumo de etanol e água do animal G18.....	...135

APÊNDICE 8 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como não-sensibilizado que apresentaram padrão de consumidor com recaída.....	...136
FIGURA 20: Consumo de etanol e água do animal G7.....	...136
APÊNDICE 9 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como não-sensibilizado que apresentaram padrão de consumo indefinido.....	...137
FIGURA 21: Consumo de etanol e água do animal G22.....	...137
FIGURA 22: Consumo de etanol e água do animal G23.....	...138
APÊNDICE 10 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como sensibilizado que apresentaram padrão de consumidor leve.....	...139
FIGURA 23: Consumo de etanol e água do animal G6.....	...139
FIGURA 24: Consumo de etanol e água do animal G19.....	...140
FIGURA 25: Consumo de etanol e água do animal G21.....	...141
FIGURA 26: Consumo de etanol e água do animal G26.....	...142
APÊNDICE 11 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como sensibilizado que apresentaram padrão de consumidor pesado.....	...143
FIGURA 27: Consumo de etanol e água do animal G15.....	...143
FIGURA 28: Consumo de etanol e água do animal G16.....	...144
FIGURA 29: Consumo de etanol e água do animal G29.....	...145
FIGURA 30: Consumo de etanol e água do animal G30.....	...146
APÊNDICE 12 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como sensibilizado que apresentaram padrão de consumidor com recaída.....	...147
FIGURA 31: Consumo de etanol e água do animal G28.....	...147
APÊNDICE 13 – Consumo de etanol e água ao longo do modelo de auto-administração para os animais previamente classificados como sensibilizado que apresentaram padrão de consumo indefinido.....	...148
FIGURA 32: Consumo de etanol e água do animal G9.....	...148

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPA	–	α -amino-3-hidróxi-5-metil-isoxazol
CA	–	Campo aberto
CEBRID	–	Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas
CI	–	Grupo controle do isolamento
CME	–	Caixa de movimentação espontânea
CS	–	Grupo controle da sensibilização
GABA	–	Ácido γ -aminobutírico
i.p.	–	Administração intraperitoneal
LCE	–	Labirinto em cruz elevado
NMDA	–	<i>N</i> -metil-D-aspartato
NS	–	Grupo não sensibilizado
P.A	–	Pró-análise
PKA	–	Proteína quinase A
PKC	–	Proteína quinase C
S	–	Grupo sensibilizado
v.o.	–	Administração por via oral

RESUMO

RESUMO

A teoria de incentivo-sensibilização da dependência enfoca a maneira através da qual pistas ambientais previamente condicionadas à droga iniciam um estado motivacional excessivo para o consumo da droga, levando à sua procura e uso compulsivos e à recaída. Estes autores sugerem que a sensibilização teria um papel fundamental no desenvolvimento de dependência por causar um aumento progressivo no desejo (*craving*) pela droga. Além disso, a persistência desta neuroadaptação seria uma de suas características mais importantes para a dependência e estaria relacionada ao *craving* e à recaída que pode ocorrer após meses ou até anos de abstinência. Dado o possível envolvimento da sensibilização no desenvolvimento da dependência, o presente estudo objetivou: (1) verificar se a sensibilização prévia poderia predispor camundongos a um padrão de consumidor com recaída num modelo de livre escolha de etanol; (2) avaliar se a sensibilização psicomotora persiste após um período de quatorze semanas de livre escolha entre etanol e água, correspondente à duração do modelo e (3) verificar se a auto-administração de etanol *per se* é capaz de induzir sensibilização psicomotora. Durante 21 dias, camundongos Swiss machos receberam etanol (2g/kg i.p.). No 21º dia, 10 minutos após a injeção, os animais foram avaliados na caixa de movimentação espontânea (CME) e classificados em "sensibilizados" (grupo S) ou "não-sensibilizados" (grupo NS). Outros animais receberam salina pelo mesmo período e foram testados na CME após injeção de salina (grupo CI) ou de etanol (2g/kg) agudamente (grupo CS). Todos os animais foram alojados isoladamente. O grupo CI recebeu água *ad libitum* durante todo o restante do experimento. Os grupos S, NS e CS tiveram livre escolha entre água ou etanol 5% e 10% (v/v) durante dez semanas (fase de livre escolha). Após este período, as soluções de etanol foram retiradas durante duas semanas (fase de abstinência) e reintroduzidas por mais duas semanas (fase de reapresentação). Todos os animais foram avaliados na CME, campo aberto e labirinto em cruz elevado em duas ocasiões: 48 horas após a retirada das soluções etílicas, e no final do experimento após administração de etanol (2 g/kg, i.p.) (grupos S, NS e CS) ou salina (grupo CI). Nenhuma diferença foi observada entre os grupos na preferência de etanol e no consumo na fase de reapresentação e nos diferentes padrões de consumo. No entanto, o grupo S continuou ambulando mais em todas as ocasiões de teste (com ou sem etanol) quando comparado aos outros grupos. Além disso, após a auto-administração o grupo NS passou a expressar sensibilização psicomotora, porém em menor magnitude. Os resultados sugerem que a sensibilização psicomotora ao etanol é uma neuroadaptação persistente, induzida tanto pela administração da droga pelo experimentador quanto pelo animal, porém em menor grau. No entanto, não parece ser um fator preditivo do consumo e da preferência por esta droga. Sugere-se que os circuitos centrais envolvidos no desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante do etanol são diferentes daqueles envolvidos na procura pela droga e que é determinante para a dependência.

ABSTRACT

The incentive-sensitization theory of addiction focuses on how environmental cues previously conditioned to the drug trigger excessive incentive motivation for the drug consumption, leading to its compulsive seeking and taking and relapse. These authors suggest that the sensitization could have a fundamental role in the addiction development for inducing a gradual increase in the drug craving. Moreover, the persistence of this neuroadaptation would be one of the most important features of the addiction and could be related to craving and relapse, even after months or years of withdrawal. Given the possible involvement of this neuroadaptation in the addiction development, this study aimed: (1) to verify if the previously sensitization could predispose mice exposed to a ethanol self-administration model to a consumption pattern with relapse; (2) to evaluate if the psychomotor sensitization persists after fourteen weeks of free choice between ethanol and water, corresponding to the duration of the model and (3) to verify if ethanol self-administration *per se* is able to induce psychomotor sensitization. During 21 days, male Swiss mice received ethanol (2g/kg i.p.). In the 21st day, 10 minutes after the injection, the animals were evaluated in the locomotor activity cages (LAC) and classified as “sensitized” (S group) or “non-sensitized” (NS group). Other animals received saline for the same period being tested in the LAC after saline injection (CI group) or ethanol (2g/kg) acutely (CS group). All animals were individually housed. The CI group received water *ad libitum* during all the remaining experiment. The S, NS and CS groups had free choice between water or ethanol 5% and 10% (v/v) during ten weeks (free-choice phase). After this period, the ethanol solutions were withdrawn during two weeks (withdrawal phase) and reintroduced during more two weeks (re-exposure phase). All animals were evaluated in LAC, open field and elevated plus maze in two occasions: 48 hours after the ethanol solutions withdrawn (drug free test), and at the end of the experiment after ethanol (2g/kg, i.p.) (S, NS and CS groups) or saline administration (CI group). No difference was observed among the groups considering the preference for ethanol, the ethanol intake during the re-exposure phase and the different consumption patterns. However, the S group showed the highest ambulation in all test occasions (with or without ethanol) when compared to the other groups. Moreover, after the self-administration procedure the NS group became to express the psychomotor sensitization, but in minor magnitude. The results suggest that the ethanol-induced psychomotor sensitization is a persistent neuroadaptation, induced by experimenter-administered drug and by the drug self-administration. However, it does not seem to be a predictive factor of the ethanol intake or preference. It is suggested that the central neurocircuits involved in sensitization development for the stimulant ethanol effect are different from those involved in ethanol seeking behavior, which is determinant for dependence.

INTRODUÇÃO

1.0 INTRODUÇÃO

A mais recente pesquisa sobre o uso de drogas no Brasil é o I Levantamento Domiciliar sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil – 2001, realizado pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID) que abrangeu 107 cidades com mais de 200 mil habitantes (41,3% da população total do Brasil) e pessoas com idade entre 12 a 65 anos.

De acordo com este estudo, 19,4% dos entrevistados já utilizaram uma droga psicotrópica (exceto álcool e tabaco) pelo menos uma vez na vida, sendo a maconha a droga ilícita mais utilizada (6,9%) seguida pelos solventes (5,8).

O álcool mostrou ser a droga mais utilizada no Brasil, seguida pelo tabaco. Os dados do levantamento mostraram que 68,7% dos entrevistados já utilizaram álcool pelo menos uma vez na vida, sendo os principais consumidores do sexo masculino. Das pessoas que participaram da pesquisa 5,2% consumiam bebidas alcoólicas regularmente (no mínimo de três a quatro vezes por semana), novamente, o sexo masculino bebia mais regularmente do que o feminino. O sexo masculino também apresentou uma maior incidência de dependentes (17,1%), sendo três vezes maior do que a do sexo feminino (5,7%). A faixa etária com maior porcentagem de dependentes foi a de 18 a 24 anos (15,5%), sendo a porcentagem de prevalência na população estudada de 11,2%.

O alto consumo de etanol em relação às demais drogas (exceto tabaco) advém de sua ampla aceitação e encorajamento à o consumo pela sociedade. No entanto, o consumo de bebidas alcoólicas traz consigo inúmeros problemas sociais, econômicos e de saúde, como acidentes de trânsito, violência, embriaguez, problemas orgânicos associados ao consumo contínuo e à dependência.

Vários fatores têm sido estudados e associados a uma maior propensão ao desenvolvimento de dependência de álcool. Além disso, inúmeros sinais e sintomas já foram identificados e são utilizados para a realização do diagnóstico. No entanto, a razão pela qual alguns indivíduos perdem o controle sobre o consumo da droga ainda não foi esclarecida e é um dos objetivos do estudo da dependência de álcool.

1.1 Mecanismo de ação do etanol

Apesar de o etanol ser uma das drogas de abuso mais frequentemente utilizada, o mecanismo através do qual ele exerce suas ações no sistema nervoso central ainda não foi totalmente esclarecido. Diferentemente do que ocorre com outras drogas psicotrópicas, seu mecanismo de ação não decorre da ligação a um sítio de ação específico na superfície da célula. Por muitos anos acreditou-se que seus efeitos eram decorrentes da capacidade do etanol de interagir com a membrana lipídica neural causando uma ruptura ou desordem na mesma (USDHHS, 2000; KORPI et al., 1998). Atualmente, pesquisas sobre o mecanismo de ação do etanol têm analisado a sua interação com substratos celulares e moleculares que se encontram na superfície ou no interior da célula, e sua capacidade de interferir com receptores para a maioria, senão todos, os neurotransmissores que atuam no sistema nervoso central (KORPI et al., 1998; FROMME; D'AMICO, 1999).

A exposição aguda ao etanol apresenta efeitos bifásicos. Inicialmente o principal efeito do etanol é uma redução da inibição social, que parece ser parcialmente causada pela supressão da ação de mecanismos modulados por neurotransmissores inibitórios. Posteriormente, são observados efeitos ansiolíticos, diminuição da atenção, alterações na memória, mudanças de humor, prejuízo motor e sedação, decorrentes de uma alteração no balanço existente entre a neurotransmissão inibitória (ácido γ -aminobutírico - GABA, glicina e adenosina) e a neurotransmissão excitatória (glutamato), resultando em inibição (VALENZUELA, 1997; KORPI et al., 1998; FROMME; D'AMICO, 1999).

O GABA é o principal neurotransmissor inibitório no sistema nervoso central, e a administração aguda de etanol parece aumentar a atividade do complexo receptor GABA_A/canal de cloro permitindo a passagem do íon cloro para o interior da célula e tornando o neurônio menos excitável. Este mecanismo parece contribuir para os efeitos ansiolíticos, sedativos e de prejuízo motor de doses agudas de etanol (MIHIC; HARRIS, 1997; KORPI et al., 1998). O uso agudo de etanol parece apresentar um efeito semelhante sobre os receptores da glicina, o principal neurotransmissor

inibitório no tronco cerebral, o qual parece contribuir para os efeitos depressores do etanol (VALENZUELA, 1997; USDHHS, 2000).

Ao contrário da potencialização que ocorre no consumo agudo de etanol, seu uso crônico leva a uma redução da neurotransmissão gabaérgica. Esta redução pode resultar de uma diminuição nos níveis do complexo receptor GABA_A/canal de cloro ou de mudanças nas subunidades da proteína que compõe o complexo, tornando-o menos susceptível ao etanol. Estas mudanças na neurotransmissão gabaérgica parecem contribuir com o desenvolvimento de tolerância (isto é, a necessidade de consumir doses cada vez mais altas para que os mesmos efeitos inicialmente obtidos com o consumo da droga possam ser novamente alcançados) aos efeitos sedativos do etanol, e com a ocorrência de convulsões e ansiedade após a retirada abrupta desta droga, ou seja, durante a síndrome de abstinência (MIHIC, HARRIS, 1997; VALENZUELA, 1997; FROMME; D'AMICO, 1999).

O glutamato é um neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central. De forma semelhante ao observado para o GABA, o etanol apresenta um papel dual sobre a neurotransmissão glutamatérgica. A exposição aguda ao etanol causa uma inibição da neurotransmissão glutamatérgica, a qual parece ocorrer através de uma redução no tempo em que o canal do receptor NMDA (*N*-metil-D-aspartato), permanece aberto, reduzindo, assim, a passagem de cátions (sódio e cálcio) através do canal iônico, e tornando a célula menos excitável. Os receptores AMPA (α -amino-3-hidróxi-5-metil-isoxazol)/kainato também parecem ser inibidos pelo etanol, porém estudos com culturas de neurônios têm demonstrado que as concentrações necessárias para que este efeito seja observado são mais elevadas do que para o efeito sobre o receptor NMDA. A inibição da função dos receptores NMDA contribui para os efeitos de sedação, perda de memória e prejuízo do aprendizado que ocorre durante a exposição aguda ao etanol (GONZALES; JAWORSKI, 1997; FROMME; D'AMICO, 1999; USDHHS, 2000).

A exposição crônica ao etanol leva a um aumento na neurotransmissão glutamatérgica. A constante inibição da atividade dos receptores NMDA parece causar um aumento no número destes em algumas regiões cerebrais, permitindo o maior influxo de íons, resultando em um aumento na atividade e na sensibilidade do sistema

glutamatérgico. Quando o etanol é retirado, a neurotransmissão glutamatérgica aumenta acima de níveis normais, podendo contribuir para as convulsões e hiperatividade observadas durante a síndrome de abstinência e, além disso, levando a morte celular (GONZALES; JAWORSKI, 1997; FROMME; D'AMICO, 1999; USDHHS, 2000).

O neuromodulador serotonina tem seus níveis aumentados com o uso agudo de etanol, porém os efeitos desta droga sobre a ligação aos receptores de serotonina não são bem entendidos. Tem-se sugerido que o receptor 5-HT_{1B} estaria envolvido com os efeitos de intoxicação por etanol, uma vez que camundongos 5-HT_{1B} *knockout* (ou seja, animais que não expressam este receptor) apresentariam uma resposta reduzida à exposição aguda ao etanol. De maneira semelhante, os efeitos do uso crônico de etanol sobre a neurotransmissão serotoninérgica são incertos. Existem estudos demonstrando tanto aumento como diminuição nos níveis de serotonina e no número e densidade de seus receptores. O número e a atividade de receptores do tipo 5-HT₂ parecem aumentar com o consumo crônico de etanol e estariam relacionados ao aumento da ansiedade decorrente da retirada da droga. Além disso, também tem sido sugerido o envolvimento da serotonina no desenvolvimento de tolerância para os efeitos do etanol (LOVINGER, 1997; FROMME; D'AMICO, 1999).

A dopamina é um neuromodulador do sistema nervoso central envolvido na motivação e na recompensa tanto de estímulos naturais (por exemplo, reprodução, alimentação) como de drogas de abuso. No entanto, a função da dopamina no circuito da recompensa (sistema dopaminérgico mesolímbico) parece não ser a de simplesmente sinalizar recompensa, mas a de dar enfoque a eventos significantes, sejam eles reforçadores ou não, e colaborar na consolidação da memória relacionada a estes eventos. Além disso, sinais e estímulos que tenham sido previamente associados com o evento também são capazes de gerar liberação de dopamina (FROMME; D'AMICO, 1999; HYMAN; MALENKA, 2001).

O etanol age agudamente aumentando a liberação de dopamina no núcleo accumbens devido a estímulos sensoriais (estímulo gustatório, por exemplo) e, posteriormente, agindo diretamente no cérebro. Tem sido sugerido que esta ação direta

sobre a neurotransmissão dopaminérgica poderia reforçar as propriedades motivacionais relacionadas ao estímulo gustatório do etanol. Ao contrário do que ocorre com os reforçadores naturais, o uso crônico de etanol não leva a uma tolerância para a liberação da dopamina, ou seja, apesar de ocorrer uma diminuição da atividade dopaminérgica no sistema nervoso, o consumo de etanol continua a aumentar a liberação de dopamina no núcleo accumbens. Em consequência desta liberação persistente de dopamina no núcleo accumbens em resposta ao etanol, os estímulos relacionados a esta droga adquirem um significado emocional e motivacional anormal que pode estar envolvido na perda de controle sobre o consumo da droga e no desejo compulsivo. Além disso, ocorre uma redução na liberação de dopamina quando o etanol é retirado a qual parece ser parcialmente responsável pelos sintomas de disforia apresentados durante a síndrome de abstinência (DI CHIARA, 1997; FROMME; D'AMICO, 1999; HYMAN; MALENKA, 2001).

O mecanismo através do qual o etanol age sobre a liberação de dopamina não é bem conhecido, porém parece ser influenciado pela ação de outros neurotransmissores (DI CHIARA, 1997; FROMME; D'AMICO, 1999).

Os peptídeos opióides parecem alterar a neurotransmissão dopaminérgica através da ativação dos receptores *mu* e *delta*, contribuindo para os efeitos de recompensa e o comportamento de auto-administração de etanol (DI CHIARA, 1997; ROBERTS; KOOB, 1997; HYMAN; MALENKA, 2001). O consumo agudo de etanol parece aumentar os níveis de encefalinas e de beta endorfinas em algumas regiões do cérebro. Este efeito, além de sua influência sobre a liberação de dopamina, tem sido relacionado à sensação de bem-estar e euforia causados pelo consumo de etanol e pode contribuir para o efeito reforçador da droga. Com o uso crônico de etanol os níveis de encefalinas e beta endorfinas são então diminuídos. Ocorre uma redução da atividade dos receptores do tipo *mu* e um aumento no número de receptores do tipo *delta*, o que tem sido relacionado à anedonia (FROELICH, 1997; FROMME; D'AMICO, 1999).

Assim como os peptídeos opióides, o neuromodulador serotonina também parece influenciar a liberação de dopamina. A ação da serotonina sobre os receptores 5-HT₂ aumenta a estimulação da atividade de neurônios dopaminérgicos na área

tegmentar ventral causada pela administração de etanol levando a um aumento na liberação de dopamina. Outro mecanismo através do qual a serotonina interfere na neurotransmissão dopaminérgica é através de receptores do tipo 5-HT₃, a exposição ao etanol aumenta a atividade deste receptor causando um aumento na liberação de dopamina no núcleo accumbens. Esta dinâmica entre a atividade serotoninérgica e a liberação de dopamina parece ser um mecanismo modulatório para os efeitos de reforço do etanol (LOVINGER, 1997; FROMME; D'AMICO, 1999).

O neurotransmissor noradrenalina também está envolvido com os efeitos reforçadores do etanol. A exposição aguda ao etanol apresenta um efeito bifásico sobre a neurotransmissão noradrenérgica: baixas doses aumentam os níveis de noradrenalina causando um aumento no estado de alerta e vigília, enquanto altas doses diminuem sua liberação contribuindo para os efeitos hipnótico e sedativo do etanol. O uso crônico desta droga causa uma diminuição da atividade noradrenérgica que parece estar envolvida com os déficits neurológicos e com o comportamento de procura pela droga (FROMME; D'AMICO, 1999). Além disso, assim como a serotonina e os peptídeos opióides, a noradrenalina parece modular a liberação de dopamina no núcleo accumbens e, deste modo, influenciar o efeito reforçador do etanol (WEINSHENKER, 2000). A retirada de etanol após o uso crônico causa um aumento na neurotransmissão noradrenérgica que têm sido associado ao aumento da pressão sanguínea e dos batimentos cardíacos, *delirium tremens* e alucinações durante a abstinência aguda de etanol (FROMME; D'AMICO, 1999).

A adenosina é um neuromodulador cujos níveis extracelulares são aumentados com o uso agudo de etanol. Sua ação moduladora sobre a atividade de grande parte dos neurotransmissores do sistema nervoso central é alterada pelo etanol e contribui para muitos de seus efeitos agudos, como, por exemplo, a incoordenação motora. O aumento de adenosina após a exposição aguda ao etanol é, pelo menos em parte, decorrente de uma estimulação da fosforilação do transportador de adenosina pela proteína quinase A (PKA), o que inibe a captação do neuromodulador para o interior do neurônio. A exposição crônica ao etanol parece não somente inibir a PKA, como estimular uma proteína quinase C (PKC), responsável por ativar uma enzima que retira

os grupos fosfatos adicionados pela PKA. Este mecanismo diminui a sensibilidade do transportador de adenosina ao etanol e parece contribuir para o desenvolvimento de tolerância (NAGY, 1990; DOHRMAN, 1997; VALENZUELA, 1997).

O etanol possui múltiplos sítios de ação no sistema nervoso central, afetando não somente neurotransmissores como receptores, segundos mensageiros e substratos celulares e moleculares além dos aqui descritos.

1.2 Dependência de etanol

A dependência de etanol pode ser definida como o uso compulsivo desta droga, um comportamento sobre o qual o indivíduo perde o controle apesar das consequências adversas oriundas do consumo (KOOB, 2000). A dependência é caracterizada por sinais e sintomas como (1) tolerância, (2) síndrome de abstinência, (3) uso de etanol em quantidades maiores e por um tempo mais prolongado do que o inicialmente pretendido, (4) desejo persistente (*craving*) ou dificuldades para diminuir o uso da droga, (5) gasto de grande quantidade de tempo para adquirir a droga e/ou recuperar-se dos efeitos por ela produzidos, (6) prejuízo das atividades sociais e ocupacionais devido ao uso do etanol e (7) uso continuado apesar de problemas físicos e/ou psicológicos associados ao uso da droga (APA, 1994; TABAKOFF; HOFFMAN, 2000).

É proposto que a exposição aguda ao etanol gera neuroadaptações na tentativa de antagonizar o efeito causado pela presença da droga (FADDA; ROSSETTI, 1998), e que com o uso prolongado ocorra uma gradual e, talvez, permanente adaptação do funcionamento cerebral para a presença constante do etanol (ANTON, 1999).

Tolerância e abstinência são dois processos neuroadaptativos que reforçam a idéia de que o cérebro primeiramente se adapta contra os efeitos agudos do etanol. Tolerância corresponde a uma necessidade de consumir doses cada vez mais altas para que os mesmos efeitos inicialmente obtidos com o consumo da droga possam ser novamente alcançados. A síndrome de abstinência é decorrente de um processo adaptativo sobre os neurotransmissores do sistema nervoso central com ação oposta

àquela do etanol quando consumido agudamente. Quando o etanol é retirado ocorre uma hiperatividade não mais antagonizada pela presença da droga. A síndrome de abstinência característica do alcoolismo se manifesta por sintomas opostos aos observados após o uso agudo do etanol, como hiperatividade do sistema autônomo (hipertensão e taquicardia), excitação neural (tremores e convulsões), distorções da percepção (alucinações, delírios e alterações do sono) e efeitos emocionais (irritabilidade, inquietação, ansiedade) (VALENZUELA, 1997; USDHHS, 2000).

Outro processo neuroadaptativo proposto, que se desenvolve devido ao uso crônico de etanol, é a sensibilização. A sensibilização é um fenômeno que ocorre com o uso intermitente e repetido das mesmas doses iniciais da droga gerando um aumento das respostas aos efeitos estimulantes do etanol (MASUR; BOERNGEN, 1980).

Estes processos neuroadaptativos alterariam o funcionamento neurobiológico normal e ocasionariam a procura e o consumo compulsivo da droga mesmo após meses ou anos de abstinência (ANTON, 1999; KOOB, 2000).

A perda de controle sobre o consumo da droga é considerada como um dos principais critérios da dependência (WOLFFGRAMM; HEYNE, 1995; WOLFFGRAMM et al., 2000), no entanto, ainda não foi descoberta a razão pela qual alguns indivíduos passam de um comportamento de consumo casual da droga para a perda de controle e o uso compulsivo. Várias teorias têm sido propostas, elas incorporam a idéia de que a presença da droga no organismo leva a alterações neurais, porém diferem em termos de qual mudança é a principal para o desenvolvimento da dependência (ROBINSON; BERRIDGE, 2003).

O etanol age como um reforçador e acredita-se que suas propriedades reforçadoras contribuam para o uso crônico e o desenvolvimento de dependência a esta droga. (Um reforçador pode ser definido como qualquer evento que aumenta a probabilidade de uma determinada resposta). O etanol possui tanto propriedades reforçadoras positivas como negativas. O reforço positivo é um processo através do qual uma ação que resulta em prazer, ou recompensa, torna-se repetitivo. O efeito prazeroso e a melhora do humor (euforia) associados ao consumo de etanol são considerados reforçadores positivos. Propriedades reforçadoras negativas estão

relacionadas ao comportamento motivado para a esquiva ou interrupção de um estado ou situação desprazerosa. O reforço negativo do etanol ocorre quando o indivíduo utiliza a droga na tentativa de reverter um estado emocional desagradável (depressão ou ansiedade) ou reverter estados aversivos relacionados com a droga (síndrome de abstinência) (ROBERTS; KOOB, 1997; VALENZUELA, 1997; USDHHS, 2000).

Alguns autores argumentam que dependentes utilizam drogas numa tentativa de evitar o estado afetivo negativo gerado pela abstinência da droga, sugerindo que a presença deste estado afetivo negativo não somente pode sinalizar o início do desenvolvimento da dependência, mas pode contribuir para a vulnerabilidade à recaída e pode também ter significado motivacional. Segundo esses autores, em alguns casos, o ciclo de dependência iniciar-se-ia com a primeira falha em regular a administração da droga a qual poderia conduzir ao estado afetivo negativo, que levaria a um ciclo de falhas repetidas, onde cada ciclo traria um afeto negativo adicional. A desregulação progressiva do sistema de recompensa do cérebro levaria a repetidos ciclos de dependência (KOOB; LE MOAL, 1997, 2001).

Outros autores postulam que danos na função do córtex frontal, responsável pela inibição de impulsos motivacionais fortes, poderiam conduzir ao comportamento impulsivo e à perda do controle sobre o consumo da droga (ANTON, 1999). Eles propõem que os comportamentos e os seus estados motivacionais associados que são relevantes para a dependência de drogas fundamentam-se nos processos de perda de comportamentos de autocontrole em favor de formas automáticas motivadas por estímulos sensoriais e à atribuição de saliência à droga de abuso mesmo na presença de outros estímulos reforçadores. Estes estados seriam primeiramente evocados na presença da droga de abuso ou de pistas ambientais a ela condicionadas, no entanto, tornar-se-iam tendências de ações crônicas, contribuindo para a recaída, consumo compulsivo (compulsões comportamentais), abstinência e *craving* (compulsões mentais) (GOLDSTEIN; VOLKOW, 2002). O *craving* tem sido definido como um desejo urgente de experimentar novamente os efeitos causados previamente pela droga e que pode fazer com que indivíduos abstinentes por até mesmo meses ou anos reiniciem o uso de etanol (ANTON, 1999; KOOB, 2000).

Outra teoria de dependência, proposta por Robinson e Berridge (1993), denominada teoria de incentivo-sensibilização da dependência, enfoca a maneira através da qual pistas ambientais previamente condicionadas à droga iniciam um estado motivacional excessivo para o consumo da droga, levando à sua procura e uso compulsivos e à recaída. Estes autores sugerem que a sensibilização poderia ter um papel fundamental no desenvolvimento de dependência por causar um aumento progressivo no desejo (*craving*) pela droga.

1.3 Teoria de incentivo-sensibilização da dependência

Em 1993, Robinson e Berridge propuseram uma teoria relacionando o desenvolvimento de sensibilização psicomotora com a transição do comportamento de consumo controlado para a perda de controle sobre o consumo de drogas. Segundo esta teoria, drogas que causam dependência possuem a capacidade de produzir neuroadaptações persistentes em sistemas cerebrais envolvidos no processo de incentivo motivacional e recompensa, que se tornariam hipersensíveis (sensibilizados) para a droga e estímulos com ela relacionados. Assim, com o consumo repetido da droga, estímulos ambientais e emocionais anteriormente ordinários tornar-se-iam patologicamente salientes e cada vez mais atrativos, adquirindo relevância em detrimento de outros estímulos recompensadores. As drogas e os estímulos associados passariam a controlar o comportamento, um processo que determinaria o desejo pela droga e promoveria a sua procura e uso compulsivos.

De acordo com os autores, o processo psicológico sensibilizado envolvido na atribuição de saliência aos estímulos previamente ordinários estaria relacionado ao “querer” a droga (um processo denominado de saliência do incentivo) e não ao “gostar” da droga (relacionado aos efeitos hedônicos da droga). Assim, o “querer” não necessariamente seria acompanhado pelo “gostar”, e o indivíduo dependente continuaria procurando e utilizando compulsivamente a droga apesar das consequências negativas do uso continuado e mesmo que os efeitos da droga deixem

de ser encarados como prazerosos (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003).

O substrato neural, envolvido com a atribuição de saliência patológica, teria como principal componente o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Este mesmo sistema (ou pelo menos parte dele) também estaria relacionado aos efeitos de ativação psicomotora (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003). Alguns trabalhos têm demonstrado que o aumento na liberação de dopamina no núcleo accumbens é acompanhado por um aumento na responsividade comportamental para drogas estimulantes psicomotoras, como anfetamina, e indicam o envolvimento deste sistema no efeito estimulante agudo e sobre o desenvolvimento da sensibilização a drogas de abuso (BROWMAN et al., 1998).

Aumento da atividade locomotora, comportamento rotacional e padrões motores estereotipados são alguns efeitos de ativação psicomotora utilizados para verificar a existência de sensibilização psicomotora em animais (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003). A atividade locomotora tem sido a medida mais usada para avaliar a sensibilização comportamental em camundongos (MASUR; BOERNGEN, 1980; BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000; QUADROS et al., 2002), porém em ratos esse fenômeno não é tão evidente (MASUR, OLIVEIRA DE SOUZA; ZWICKER, 1986; HOSHAW; LEWIS, 2001).

A sensibilização não é um fenômeno que ocorre como consequência inevitável da administração repetida de uma droga. Existe uma grande variação individual na susceptibilidade para o desenvolvimento de sensibilização. Enquanto alguns indivíduos são sensibilizados forte e rapidamente, outros apresentam fraca sensibilização, se é que se tornam sensibilizados (SOUZA-FORMIGONI et al., 1999; QUADROS et al., 2002). Os fatores que interferem com esta variação individual incluem fatores genéticos, hormonais e experimentais. Estes mesmos fatores que interferem com a variação individual para a sensibilização são postulados como contribuintes para a variação individual para a dependência (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003).

O aprendizado e as circunstâncias relacionadas à administração da droga são outros fatores que modulam a indução e a expressão de sensibilização. Animais que recebem administrações repetidas da droga em um meio ambiente e são testados em um local diferente podem não expressar sensibilização comportamental, apesar de a sensibilização neural ter sido induzida. Isto ocorre porque a expressão da sensibilização no comportamento é influenciada por estímulos associados à administração da droga, ou seja, a expressão da sensibilização comportamental é um fenômeno contexto-específico. Além disso, a sensibilização psicomotora pode ser expressa em um ambiente onde a droga é esperada mesmo que ela não seja administrada (ANAGNOSTARAS et al. 2002). Segundo a teoria de incentivo-sensibilização, esta característica da expressão da sensibilização ser dependente de um contexto poderia estar relacionada à habilidade de um estímulo específico associado à droga iniciar o *craving* e levar a recaída (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003).

Além disso, segundo os autores, uma das características mais importantes da sensibilização relacionada à dependência é a sua persistência (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003). Em animais, a sensibilização psicomotora pode persistir por meses ou anos após a interrupção do tratamento com a droga (ROBINSON; BECKER, 1986; ITZHAK et al., 2002).

O desenvolvimento de sensibilização tem sido demonstrado após administração da droga pelo experimentador (MASUR; BOERNGEN, 1980; BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000; QUADROS et al., 2002). No entanto, existem estudos controversos sobre se ela ocorre após um período de auto-administração de etanol (PÄIVÄRINTA; KORPI, 1993; COLOMBO et al., 1998; SAMSON; CHAPPELLE, 1995).

Da mesma forma, estudos tentando relacionar o consumo e/ou preferência por etanol e o desenvolvimento de sensibilização psicomotora em animais de laboratório tem mostrado resultados contraditórios. Samson e Chappelle (1995) não encontraram correlações entre a atividade locomotora após administração de anfetamina ou sem administração de drogas e a preferência ou o consumo de etanol de ratos Wistar em

um paradigma de dez dias de livre escolha entre etanol e água. Em outro estudo, Sanchez et al. (1996) não encontraram diferenças no consumo de etanol, em um procedimento de auto-administração operante, entre camundongos geneticamente selecionados por apresentar alta (FAST) ou baixa (SLOW) atividade locomotora em resposta ao etanol. Ao contrário, Päivärinta e Korpi (1993) observaram um aumento na atividade locomotora após três semanas de consumo voluntário em um paradigma de livre escolha entre etanol e água de animais geneticamente selecionados pela preferência por etanol (alcohol-preferring AA rats). De maneira semelhante, Colombo et al. (1998) relataram um aumento na atividade locomotora após uma semana de sessões diárias de consumo voluntário em um paradigma de livre escolha entre etanol e água (15 minutos/sessão) de outra linhagem geneticamente selecionada pela preferência por etanol (Sardinian alcohol-preferring sP rats).

HIPÓTESE

2.0 HIPÓTESE

De acordo com a teoria de incentivo-sensibilização da dependência, o desenvolvimento de sensibilização psicomotora teria um papel central no desenvolvimento de dependência. O consumo continuado de uma droga de abuso levaria à sensibilização do substrato neural responsável por atribuir saliência aos estímulos recompensadores, fazendo com que a droga se tornasse patologicamente desejada (*craving*) e promovendo a sua procura e uso compulsivos. Assim, animais previamente sensibilizados aos efeitos estimulantes do etanol se tornariam mais susceptíveis a procura e ao consumo desta droga quando submetidos a um paradigma de livre escolha entre etanol e água em modelo animal de recaída.

OBJETIVOS

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Verificar se camundongos previamente sensibilizados ao efeito estimulante do etanol são mais susceptíveis ao desenvolvimento de um comportamento de procura por esta droga em um modelo de auto-administração por livre escolha de etanol.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar se a sensibilização psicomotora previamente expressa persiste após um período de quatorze semanas correspondente ao modelo de auto-administração de etanol.
- Verificar se a auto-administração de etanol *per se* é capaz de induzir sensibilização psicomotora.

METODOLOGIA

4.0 METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados noventa camundongos Swiss machos, com peso corporal variando entre 19-30g. Os animais foram obtidos do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná e transferidos para o Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central. Durante o experimento 1, os animais foram agrupados em número de 15 indivíduos/gaiola (50cm X 30cm X 15cm). Quarenta camundongos selecionados a partir dos resultados obtidos no experimento 1 foram isolados (1 animal/gaiola – 20cm X 30cm X 20cm) durante os experimentos 2 e 3. Todos os experimentos foram realizados em sala com temperatura ambiente controlada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes acessas às 7 horas). Os testes comportamentais foram realizados entre 13h30 e 17h30 h. Os camundongos receberam ração comercial e água *ad libitum*.

4.2 Drogas

Nos experimentos 1 e 3 foi utilizado etanol absoluto P.A. (Laboratório Merck) diluído em solução salina 0,9% para a concentração de 10% (p/v) e administrado intraperitonealmente (i.p.) na dose de 2g/kg. Solução salina 0,9% i.p. foi administrada em volume correspondente à dose de etanol. No experimento 2 foi utilizado etanol 95% P.A. (Laboratório Vetec) diluído em água nas concentrações de 5 e 10% (v/v) e administrado por via oral (v.o.) *ad libitum*.

4.3 Aparelhos

4.3.1 Caixa de movimentação espontânea (CME)

Consiste em uma caixa (60cm x 20cm x 30cm) construída com aço escovado e acrílico, com três paredes em aço e uma (anterior) em acrílico transparente escuro e teto de aço (tampa removível). O assoalho é formado por barras de aço de 0,5cm de diâmetro separadas entre si por 1cm. Três células fotoelétricas registram o número de interrupções do feixe luminoso quando o animal se movimenta no interior da caixa, fornecendo a medida de ambulação. Além da ambulação, foi registrado o número de vezes que o animal se apoiou nas patas traseiras assumindo posição vertical (*rearing*). Cada animal foi colocado no centro da caixa 10 minutos após a administração de etanol ou salina e teve sua atividade registrada no experimento 1 durante 8 minutos e no experimento 3 durante 3 minutos. Este intervalo de tempo foi utilizado porque o pico de estimulação em resposta a administração desta dose de etanol ocorre durante os primeiros 10 minutos após a injeção (MIDDAUGH et al., 1989).

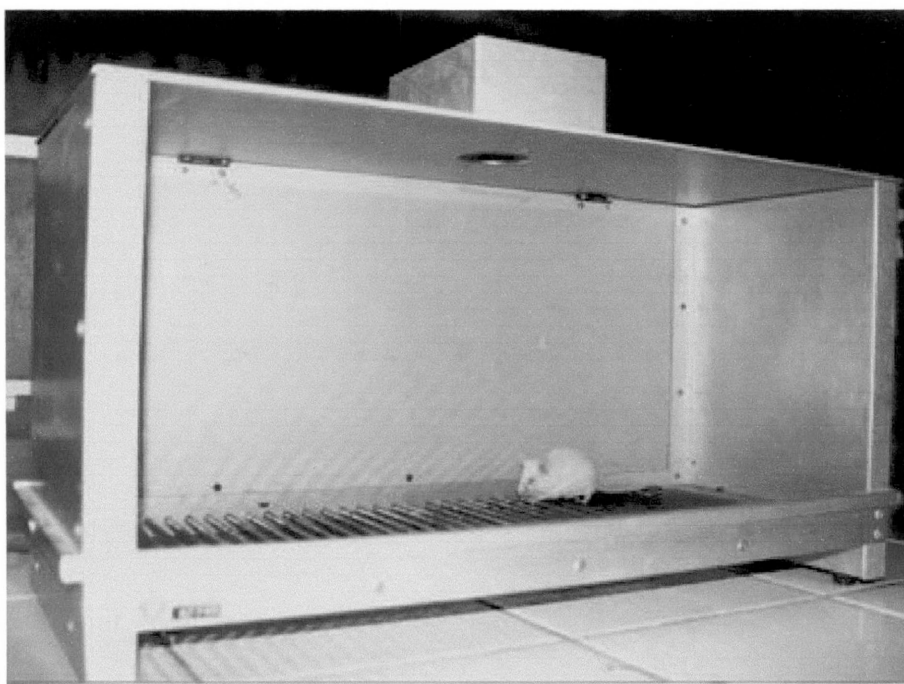


Figura 1 – Caixa de Movimentação espontânea (CME)

4.3.2 Labirinto em cruz elevado (LCE)

Construído em madeira e pintado com tinta óleo cor cinza. O aparelho consiste em dois braços abertos e opostos, medindo $50\text{cm} \times 10\text{cm}$ cada, e cruzados perpendicularmente por outros dois braços do mesmo tamanho, porém fechados nas suas três faces externas com paredes de 40cm de altura. O centro da cruz corresponde a uma área quadrada de 10cm^2 delimitada pelos quatro braços. O aparelho é elevado do solo em 50cm . A iluminação é feita por uma lâmpada vermelha de 40 watts, colocada a 120cm acima do labirinto. Foram registrados o número de entradas e o tempo de permanência em cada braço. Cada entrada foi considerada quando houve a invasão de um dos braços pelas quatro patas do animal. Das variáveis registradas foram calculados o total de entradas (número de entradas nos braços abertos mais número de entradas nos braços fechados), a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos (tempo nos braços abertos vezes 100 dividido pelo tempo nos braços abertos mais tempo nos braços fechados) e o tempo no centro (tempo total menos tempo nos braços abertos mais tempo nos braços fechados). Cada camundongo foi colocado na área central do aparelho 10 minutos após a administração de etanol ou salina e observado durante 3 minutos.

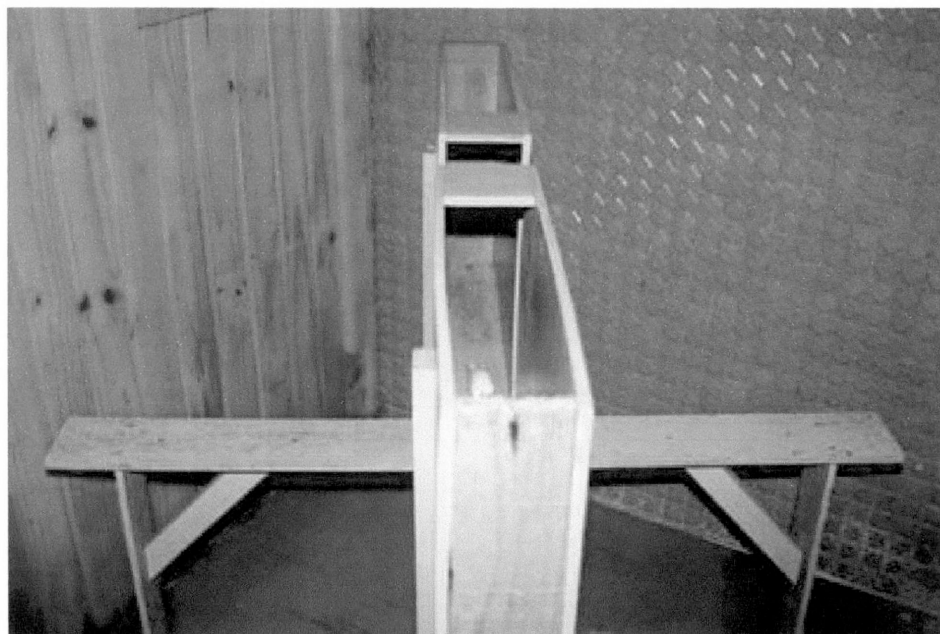


Figura 2 – Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

4.3.3 Campo aberto (CA)

Construído em madeira (piso) e aço escovado (paredes) constitui uma arena circular (1m de diâmetro) com o assoalho pintado de branco. O piso é subdividido com linhas pretas traçadas através de dois círculos concêntricos e várias linhas radiais formando figuras semelhantes a quadrados de aproximadamente 20cm de lado. A arena é circundada por uma parede de aço escovado de 50cm de altura. A 1m acima do assoalho, há quatro lâmpadas de 100 watts cada. Os parâmetros registrados foram: número de “quadrados” invadidos (ambulação) e *rearing*. Cada animal foi colocado no centro da arena 10 minutos após a administração de etanol ou salina e o seu comportamento foi quantificado durante 3 minutos.

Todos os aparelhos foram cuidadosamente limpos após o teste de cada animal com papel toalha e solução de etanol 5%.

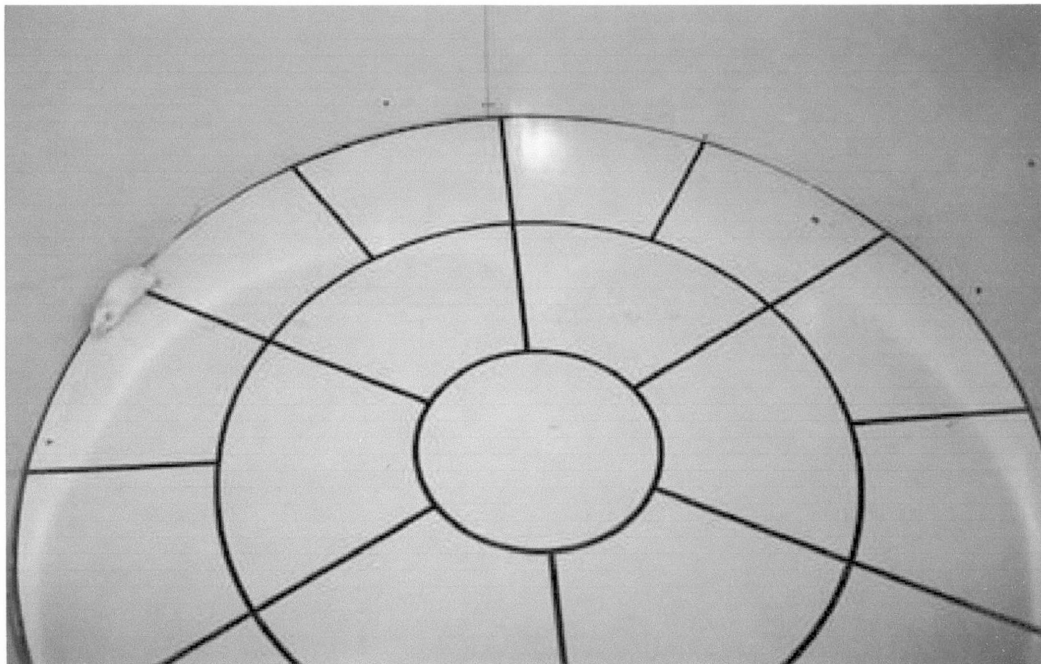


Figura 3 – Campo Aberto (CA)

4.4 Procedimento

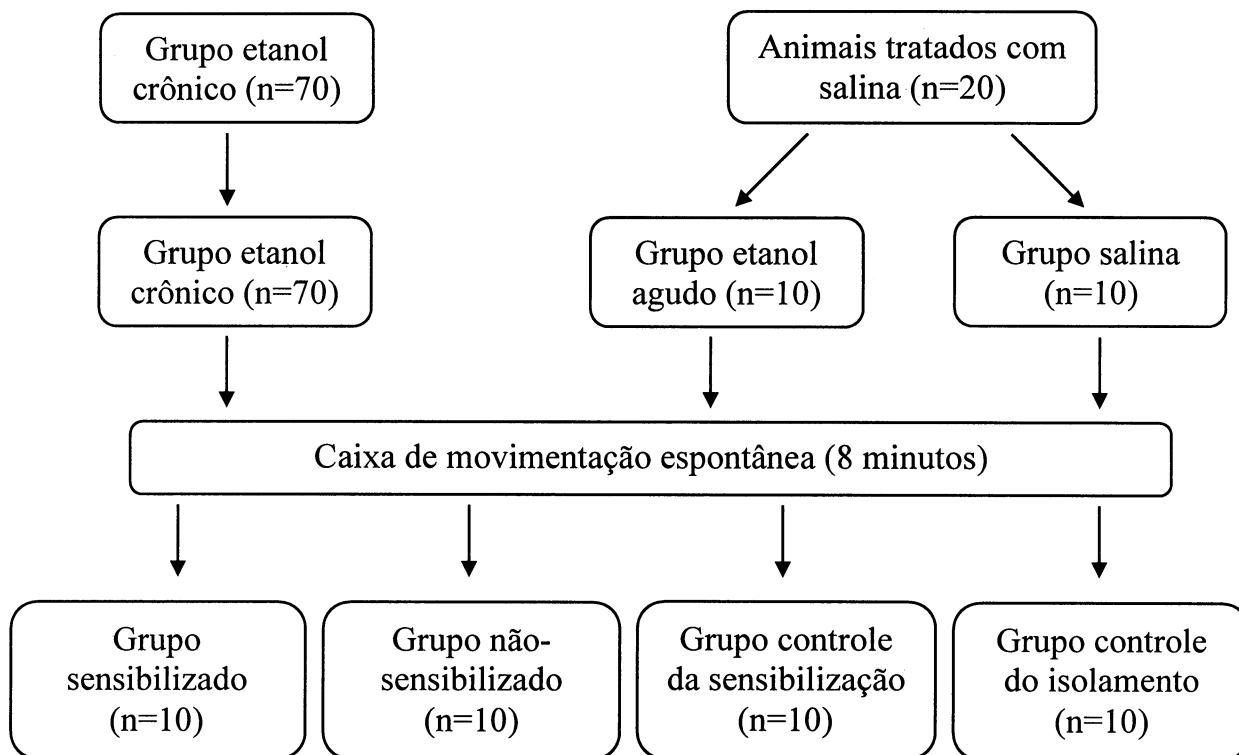
4.4.1 Experimento 1: Desenvolvimento de sensibilização comportamental

Os camundongos receberam aleatoriamente dois tratamentos. Vinte animais receberam injeções i.p. diárias de solução salina e setenta animais receberam injeções i.p. diárias de etanol na dose de 2g/kg (grupo etanol crônico). Os animais foram tratados durante vinte e um dias com intervalos de 24 horas entre as administrações.

Após este período, os animais foram submetidos ao teste de movimentação espontânea. No dia do teste os animais tratados com salina foram subdivididos em dois grupos. Dez animais receberam salina i.p. e foram denominados grupo salina e, os outros dez receberam etanol 2g/kg sendo denominados grupo etanol agudo. O grupo etanol crônico foi testado após uma dose desafio de etanol (2g/kg). Os animais foram colocados individualmente na caixa de movimentação espontânea após dez minutos da administração da droga e tiveram sua atividade locomotora registrada.

De acordo com a ambulação apresentada no teste, os animais do grupo etanol crônico foram subdivididos em não-sensibilizados ($n = 29$, camundongos que apresentaram valores de atividade locomotora individual menores do que a média do grupo etanol crônico menos 2 erros padrões, $199 - (2 \times 8,5) = 182$) e sensibilizados ($n = 26$, camundongos que apresentaram valores de atividade locomotora individual maiores do que a média do grupo etanol crônico mais 2 erros padrões, $199 + (2 \times 8,5) = 216$).

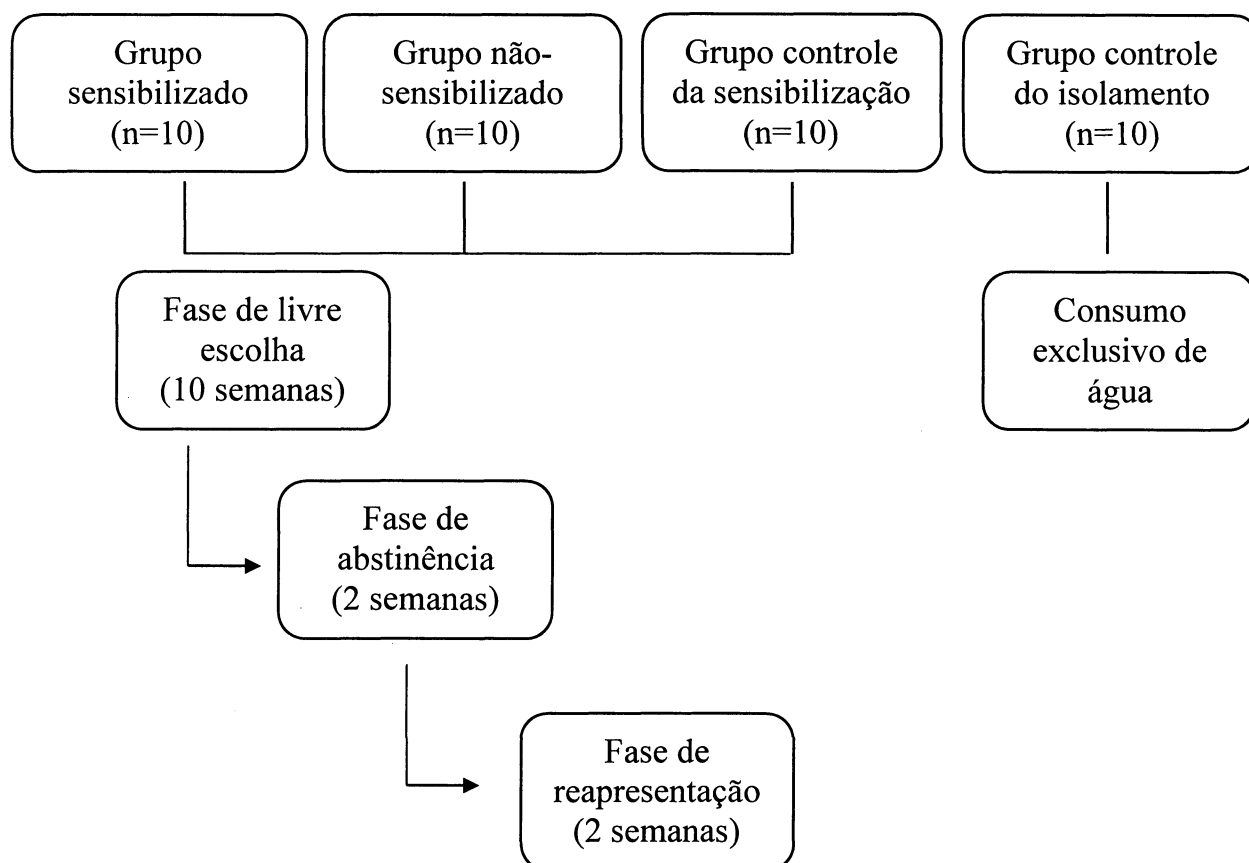
4.4.1.1 ESQUEMA I – Experimento 1



4.4.2 Experimento 2: Modelo de auto-administração de etanol

Quarenta camundongos do experimento 1 foram selecionados e distribuídos em quatro grupos (n=10 camundongos/grupo): controle do isolamento (CI, animais do grupo salina), controle da sensibilização (CS, animais do grupo etanol agudo), não-sensibilizado (NS, os dez animais do grupo etanol crônico que mostraram os menores valores de atividade locomotora) e sensibilizado (S, os dez animais do grupo etanol crônico que mostraram os maiores valores de atividade locomotora).

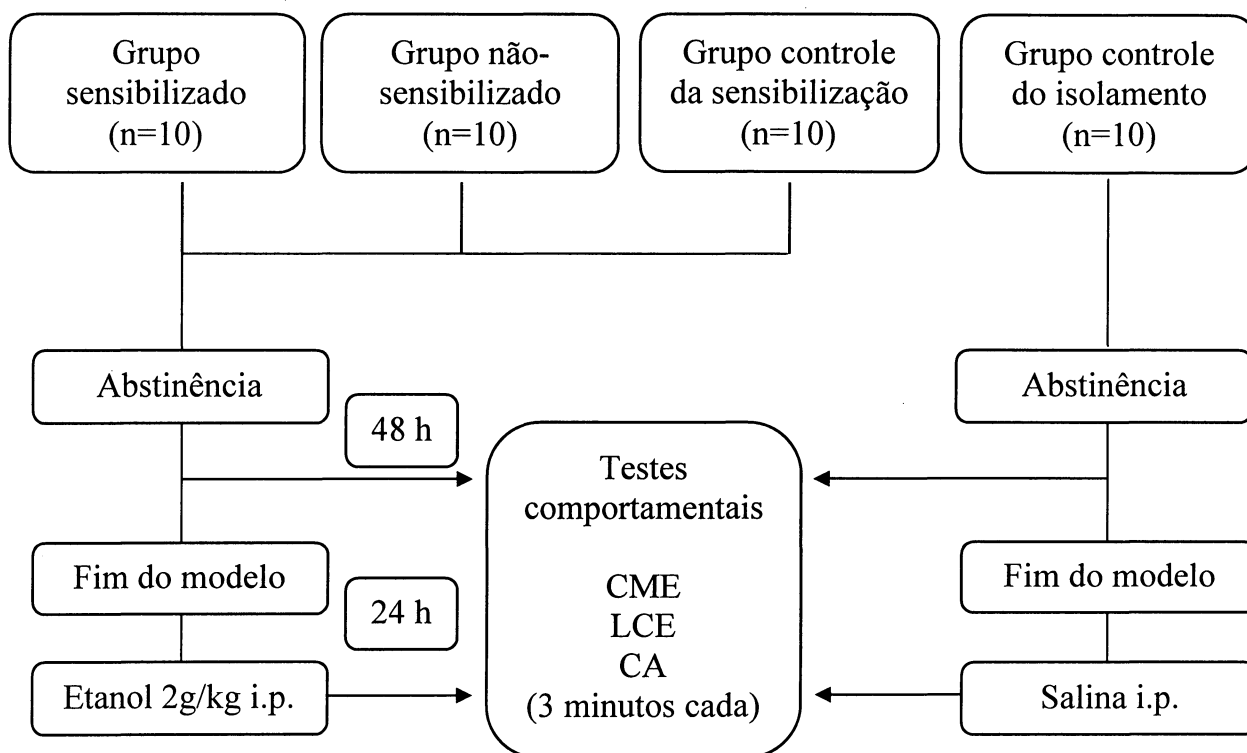
Os animais do grupo CI foram isolados em gaiolas individuais e receberam água *ad libitum* durante o restante do experimento. Os camundongos dos grupos CS, NS e S foram isolados em gaiolas individuais e tiveram livre escolha entre água e duas soluções de etanol (5% e 10% v/v) durante 10 semanas (fase de livre escolha). Após este período, as soluções de etanol foram retiradas durante duas semanas (fase de abstinência) e reintroduzidas durante mais duas semanas (fase de reapresentação). A condição de isolamento não foi alterada durante estas fases. O volume consumido de cada solução de etanol e da água foi quantificado através de proveta a cada dois dias, ocasião na qual os líquidos eram renovados e as garrafas dispostas na gaiola em posições alteradas. O peso dos animais foi medido semanalmente.

4.4.2.1 ESQUEMA II – Experimento 2

4.4.3 Experimento 3: Testes comportamentais

Os camundongos foram avaliados na caixa de movimentação espontânea, no labirinto em cruz elevado e no campo aberto em duas ocasiões: após 48 horas da retirada das soluções de etanol (fase de abstinência) e após 24 horas do término do procedimento de auto-administração. Na primeira ocasião, todos os animais foram testados sem a presença de qualquer droga. Na segunda ocasião, os grupos CS, NS e S foram testados após uma dose desafio de etanol (2 g/kg i.p.) e o grupo CI após administração de salina (i.p.). Os animais foram avaliados após 10 minutos da administração da droga. Cada animal foi avaliado nos três aparelhos seqüencialmente, sendo testado durante aproximadamente 10 minutos. O aparelho no qual a seqüência de testes foi iniciada foi escolhido aleatoriamente.

4.4.3.1 ESQUEMA 3 – Experimento 3



4.4.4 Cálculo da quantidade de etanol consumida (gramas/kilograma/dia)

O volume de etanol consumido diariamente foi transformado em gramas de etanol por quilograma por dia aplicando-se a seguinte fórmula:

$$Q \text{ (g/kg/dia)} = (V10\% \times 0,075 + V5\% \times 0,0375) \times 1000 / P$$

Q = quantidade de etanol consumida diariamente expressa em g/kg de animal

V10% = volume consumido diariamente da solução de 10% (v/v)

V5% = volume consumido diariamente da solução de 5% (v/v)

P = peso do animal avaliado semanalmente.

Os coeficientes utilizados (0,075 e 0,0375) foram calculados a partir da densidade do etanol.

4.5 Análise estatística

As comparações entre os grupos salina, etanol agudo e etanol crônico para a variável ambulação obtida na CME no experimento 1 foram realizadas através de ANOVA de Kruskal-Wallis seguido de teste “U” de Mann-Whitney. A mesma análise foi empregada para as comparações entre os grupos controles do isolamento (CI), controle da sensibilização (CS), não-sensibilizado (NS) e sensibilizado (S) para as variáveis obtidas nos três testes comportamentais dos experimentos 1 e 3, sendo que a comparação entre os testes realizados no início e término do modelo, apenas para a variável ambulação na CME obtida para cada um destes grupos, foi realizada através do teste de Wilcoxon.

Com o objetivo de verificar se o consumo de etanol e o de água eram estáveis durante a fase de livre escolha foram calculados os coeficientes de correlações de Pearson entre os consumos das 10 semanas desta fase. Comparações entre os grupos experimentais para o consumo de etanol e de água foram realizadas através de ANOVA de duas vias seguida de teste de Newmann-Keuls. O consumo de etanol entre

as duas fases experimentais foi analisado através de teste “t” de Student para amostras dependentes para cada animal. O consumo de água ao longo das três fases experimentais para cada grupo e para cada animal foi analisado através de ANOVA de uma via com repetição seguida de teste de Newmann-Keuls. A mesma análise foi empregada para o consumo total de líquidos ao longo das três fases experimentais para cada animal. A comparação entre os grupos foi realizada pela ANOVA de uma via para o consumo de água, e de etanol (%vol). O teste “t” de Student para amostras independentes foi utilizado para avaliar a preferência por água ou por etanol comparando a porcentagem de consumo de água ou etanol em relação ao volume total de líquidos ingerido para cada grupo e para cada indivíduo.

Para analisar a possível relação entre o consumo de etanol durante todas as fases experimentais do modelo de auto-administração e a ambulação dos animais tanto no início como no término do modelo foi empregado o cálculo das correlações de Spearman.

As proporções dos diferentes padrões de consumo apresentados pelos animais de cada grupo experimental ao longo do modelo foram comparadas através de teste de Fischer. A mesma análise foi feita para comparar as proporções de animais dos diferentes grupos apresentando cada um dos padrões de consumo.

O nível de significância adotado foi $p \leq 0,05$. Foi utilizado programa estatístico Statsoft CSS.

RESULTADOS

5.0 RESULTADOS

5.1 Experimento 1: Desenvolvimento de sensibilização comportamental

A tabela 1 apresenta a ambulação dos animais dos três grupos experimentais (etanol crônico, etanol agudo e salina) na caixa de movimentação espontânea. A ambulação foi avaliada após dez minutos da injeção de etanol, durante oito minutos.

Através de ANOVA de Kruskal-Wallis foi verificada diferença significativa entre os grupos de tratamento ($H(2,87) = 28,49$; $p \leq 0,001$).

Os animais do grupo tratado com etanol agudamente apresentaram ambulação significativamente maior do que os animais do grupo tratado com salina ($p \leq 0,005$).

Os animais do grupo tratado cronicamente com etanol apresentaram ambulação significativamente maior do que os grupos tratados com etanol agudamente e com salina ($p \leq 0,001$).

TABELA 1 – AMBULAÇÃO NA CAIXA DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA

GRUPO	AMBULAÇÃO
Salina (n=10)	71 (61-87)
Etanol agudo (n=10)	115,5 (96-173)*
Etanol crônico (n=67)	192 (152-252)#

NOTA: mediana e interquartis da ambulação na CME após 21 dias de administração de etanol (2g/kg) ou salina ou administração aguda de etanol 2g/kg. Símbolos representam: (*) difere do grupo salina; (#) difere dos demais grupos. Kruskal-Wallis; Teste “U” de Mann-Whitney ($p \leq 0,005$, pelo menos).

A partir dos resultados da ambulação os camundongos do grupo etanol crônico foram classificados em dois grupos (n = 10 animais por grupo): grupo sensibilizado e grupo não-sensibilizado (ver metodologia item 4.4.2 Experimento 2: Modelo de auto-administração de etanol).

Foi observada diferença significativa na ambulação entre os grupos controle do isolamento (CI), controle da sensibilização (CS), não-sensibilizado (NS) e sensibilizado (S) através de ANOVA de Kruskal-Wallis ($H(3,40) = 26,18$; $p \leq 0,001$) (Figura 4).

Como descrito anteriormente, foi observada ambulação significativamente maior dos animais do grupo tratado com etanol agudamente (CS) do que dos animais do grupo tratado com salina (CI).

Os animais do grupo sensibilizado apresentaram ambulação significativamente maior do que os animais dos demais grupos experimentais ($p \leq 0,001$).

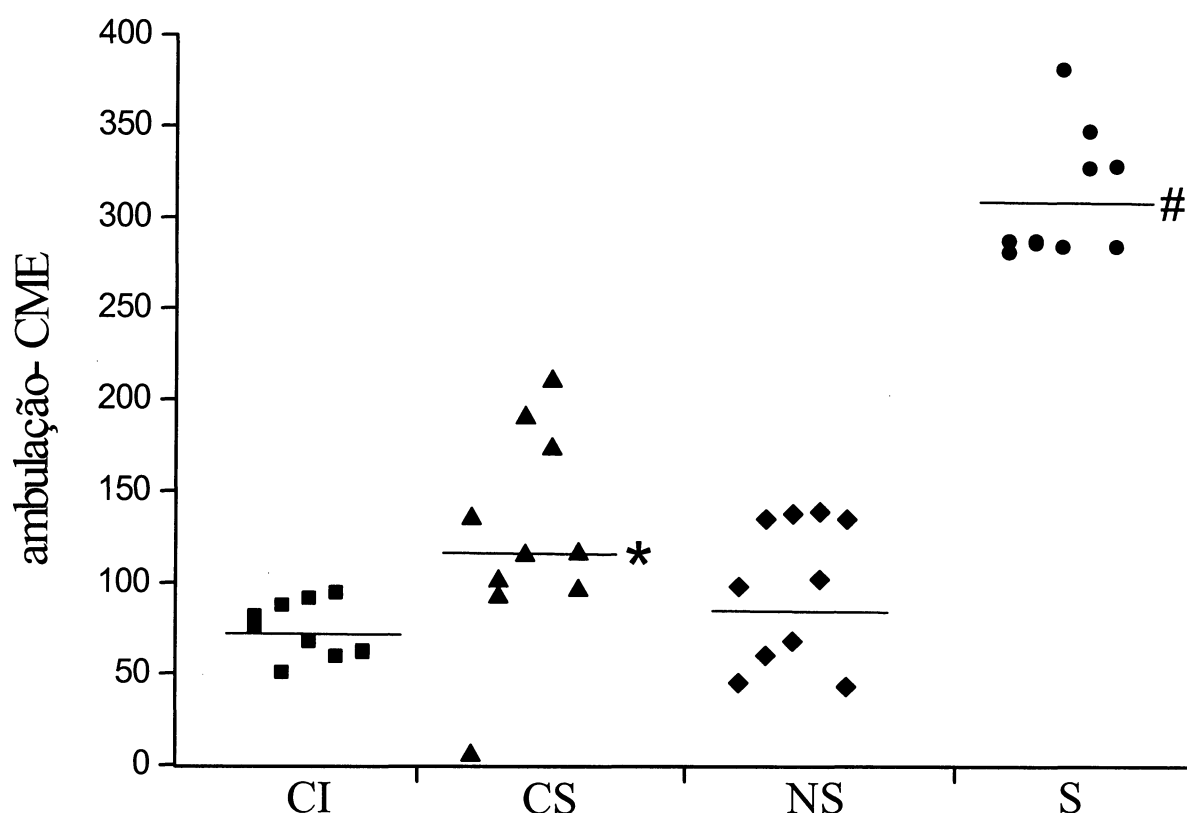


FIGURA 4 – Ambulação na caixa de movimentação espontânea dos grupos selecionados para o modelo de auto-administração. Valores individuais da ambulação dos animais após a administração de salina ao grupo controle do isolamento (CI), e após a administração de 2g/kg de etanol i.p. aos grupos controle da sensibilização (CS), não-sensibilizado (NS) e sensibilizado (S). As linhas horizontais representam a mediana da ambulação de cada grupo experimental. Símbolos representam: (*) difere do grupo controle do isolamento; (#) difere dos demais grupos. Kruskal-Wallis, Teste “U” de Mann-Whitney ($p \leq 0,005$, pelo menos).

5.2 Experimento 2: Modelo de auto-administração de etanol

5.2.1 Consumo de etanol

5.2.1.1 Correlações entre o consumo de etanol nas dez semanas da fase de livre escolha

As tabelas 2, 3 e 4 apresentam as correlações semana a semana do consumo de etanol (g/kg/dia) durante a fase de livre escolha (grupos CS, NS e S, respectivamente).

Na tabela 2 estão representadas as correlações para o grupo CS. Foram observadas correlações positivas significantes entre o consumo de etanol na semana 1 com 2, 3 e 4; semana 2 com 3, 4, 5 e 8; semana 3 com 4, 5 e 8; semana 4 com 5, 6, 7, 8 e 9; semana 5 com 6, 7, 8, 9 e 10; semana 6 com 7, 8, 9 e 10; semana 7 com 8, 9 e 10; semana 8 com 9 e 10 e semana 9 com 10 ($p \leq 0,05$).

TABELA 2 – CORRELAÇÕES ENTRE O CONSUMO DE ETANOL NAS DEZ SEMANAS DA FASE DE LIVRE ESCOLHA PARA O GRUPO CONTROLE DA SENSIBILIZAÇÃO.

	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10
S 1	0,8*	0,9*	0,7*	0,5	0,2	0,2	0,5	0,1	0,0
S 2		0,9*	0,9*	0,7*	0,6	0,6	0,8*	0,5	0,4
S 3			0,9*	0,8*	0,6	0,6	0,8*	0,5	0,4
S 4				0,9*	0,7*	0,7*	0,9*	0,7*	0,6
S 5					0,7*	0,7*	0,9*	0,7*	0,7*
S 6						1*	0,9*	0,9*	0,9*
S 7							0,9*	0,9*	0,9*
S 8								0,9*	0,9*
S 9									1*

NOTA: Valores das correlações (r) entre o consumo de etanol (g/kg/dia) nas semanas da fase de livre escolha. Os códigos significam semana 1 a semana 10 (s1 a s10). Símbolo representa: (*) correlação positiva significativa entre a semana na coluna com a semana na linha correspondente. Correlação de Pearson ($p \leq 0,05$).

Na tabela 3 estão representadas as correlações para o grupo NS. Foram observadas correlações positivas significantes entre o consumo de etanol na semana 3 com 4 e 5; semana 4 com 5 e 8; semana 5 com 6, 7, 8 e 10; semana 6 com 7, 8, 9 e 10; semana 7 com 8, 9 e 10; semana 8 com 9 e 10 e semana 9 com 10 ($p \leq 0,05$).

TABELA 3 – CORRELAÇÕES ENTRE O CONSUMO DE ETANOL NAS DEZ SEMANAS DA FASE DE LIVRE ESCOLHA PARA O GRUPO NÃO-SENSIBILIZADO.

	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10
S 1	0,1	0,3	-0,1	0,0	-0,5	-0,5	-0,4	-0,4	-0,2
S 2		0,5	0,4	0,2	0,0	0,0	0,1	0,0	-0,1
S 3			0,8*	0,7*	0,6	0,6	0,4	0,0	0,0
S 4				1*	0,6	0,6	0,8*	0,5	0,6
S 5					0,7*	0,7*	0,9*	0,6	0,7*
S 6						1*	0,9*	1*	0,9*
S 7							0,9*	1*	0,9*
S 8								0,8*	0,8*
S 9									1*

NOTA: Valores das correlações (r) entre o consumo de etanol (g/kg/dia) nas semanas da fase de livre escolha. Os códigos significam semana 1 a semana 10 (s1 a s10). Símbolo representa: (*) correlação positiva significativa entre a semana na coluna com a semana na linha correspondente. Correlação de Pearson ($p \leq 0,05$).

Na tabela 4 estão representadas as correlações para o grupo S. Foram observadas correlações positivas significantes entre o consumo de etanol na semana 1 com 2, 3 e 4; semana 2 com 3 e 4; semana 3 com 4; semana 4 com 8 e 9; semana 6 com 7, 8, 9 e 10; semana 7 com 8, 9 e 10; semana 8 com 9 e 10 e semana 9 com 10 ($p \leq 0,05$).

TABELA 4 – CORRELAÇÕES ENTRE O CONSUMO DE ETANOL NAS DEZ SEMANAS DA FASE DE LIVRE ESCOLHA PARA O GRUPO SENSIBILIZADO.

	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10
S 1	0,8*	0,9*	0,7*	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,1
S 2		0,9*	0,9*	0,5	0,4	0,4	0,6	0,5	0,4
S 3			0,8*	0,3	0,3	0,3	0,6	0,5	0,3
S 4				0,6	0,6	0,6	0,7*	0,7*	0,5
S 5					0,3	0,3	0,2	0,1	-0,1
S 6						1*	0,8*	0,9*	0,9*
S 7							0,8*	0,9*	0,9*
S 8								1*	0,8*
S 9									0,9*

NOTA: Valores das correlações (r) entre o consumo de etanol (g/kg/dia) nas semanas da fase de livre escolha. Os códigos significam semana 1 a semana 10 (s1 a s10). Símbolo representa: (*) correlação positiva significativa entre a semana na coluna com a semana na linha correspondente. Correlação de Pearson ($p \leq 0,05$).

Os três grupos apresentam correlações positivas significantes entre as semanas 6, 7, 8, 9 e 10. A partir da observação destes dados, os valores relacionados à fase de livre escolha levarão em consideração apenas o consumo dos animais nas últimas cinco semanas desta fase experimental.

5.2.1.2 Consumo de etanol nas fases experimentais de livre escolha e de reapresentação

A Figura 5 apresenta o consumo de etanol (g/kg/dia) dos grupos CS, NS e S ao longo do tratamento (A) e o consumo médio de etanol em cada fase experimental (fases de livre escolha e de reapresentação) (B) durante o modelo de auto-administração.

Através de ANOVA de duas vias foi observado diferença significativa no consumo de etanol (g/kg/dia) ($F(6,162) = 6,36$; $p \leq 0,001$) ao longo do tratamento (últimas cinco semanas da fase de livre escolha e duas semanas da fase de reapresentação). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ($F(2,27) = 0,77$; $p = 0,47$), e no fator interação entre os grupos experimentais e as semanas experimentais ($F(12,162) = 1,49$; $p = 0,13$) (Figura 5A).

A diferença significativa no consumo de etanol ao longo do tratamento ocorreu para o grupo NS ($F(6,54) = 4,17$; $p \leq 0,005$). Esta diferença se refere a um maior consumo médio de etanol na semana 8 quando comparada as semanas 6 ($p \leq 0,01$), 13 ($p \leq 0,01$) e 14 ($p \leq 0,005$).

ANOVA de duas vias não apresentou diferenças significativas no consumo médio de etanol (g/kg/dia) nas duas fases experimentais (fase de livre escolha e fase de reapresentação) entre os grupos experimentais ($F(2,27) = 0,70$; $p = 0,50$), entre as duas fases experimentais ($F(1,27) = 2,77$; $p = 0,11$), e no fator interação entre os grupos experimentais e as fases experimentais ($F(2,27) = 1,40$; $p = 0,26$) (Figura 5B).

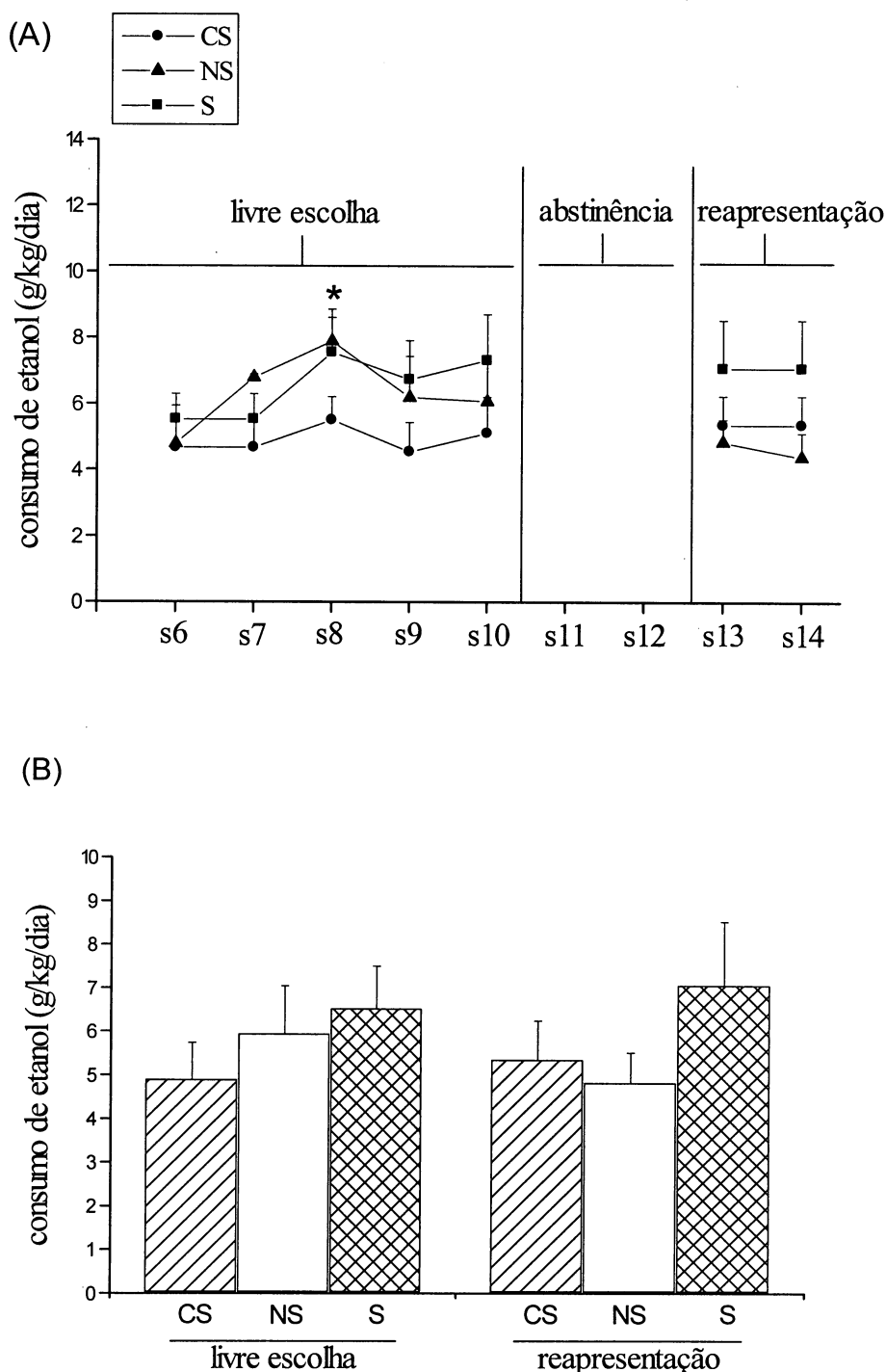


FIGURA 5 - Consumo de etanol durante as fases experimentais. (A) Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário de etanol (g/kg/dia) dos animais dos grupos experimentais submetidos ao paradigma de livre escolha: (CS) controle da sensibilização, (NS) não-sensibilizado, (S) sensibilizado. (s6 a s14) semanas do modelo de auto-administração. (B) Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) dos grupos experimentais durante as fases de livre escolha e de reapresentação. Símbolo representa: (*) difere do consumo apresentado nas semanas 6, 13 e 14 do modelo de auto-administração para o grupo não-sensibilizado. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

5.2.2 Consumo de Água

5.2.2.1 Correlações entre o consumo de água nas dez semanas da fase de livre escolha

As tabelas 5, 6, 7 e 8 apresentam as correlações semana a semana do consumo de água (ml) durante a fase de livre escolha (grupos CI, CS, NS e S, respectivamente).

Na tabela 5 estão apresentadas as correlações para o grupo CI (grupo com isolamento, porém sem livre escolha). Foram observadas correlações positivas significantes entre o consumo de água em todas as semanas do período que para os demais grupos representa a fase de livre escolha entre etanol e água ($p \leq 0,05$).

TABELA 5 – CORRELAÇÕES ENTRE O CONSUMO DE ÁGUA NAS DEZ SEMANAS DA FASE DE LIVRE ESCOLHA PARA O GRUPO CONTROLE DO ISOLAMENTO.

	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10
S 1	0,74*	0,77*	0,82*	0,81*	0,78*	0,84*	0,82*	0,83*	0,78*
S 2		0,97*	0,95*	0,93*	0,87*	0,82*	0,81*	0,86*	0,81*
S 3			0,92*	0,90*	0,81*	0,79*	0,76*	0,81*	0,75*
S 4				0,98*	0,94*	0,93*	0,93*	0,96*	0,92*
S 5					0,94*	0,96*	0,94*	0,96*	0,92*
S 6						0,97*	0,97*	0,97*	0,98*
S 7							0,99*	0,98*	0,98*
S 8								0,99*	0,99*
S 9									0,99*

NOTA: Valores das correlações (r) entre o consumo de água (ml) nas da fase de livre escolha. Os códigos significam semana 1 a semana 10 (s1 a s10). Símbolo representa: (*) correlação positiva significante entre a semana na coluna com a semana na linha correspondente. Correlação de Pearson ($p \leq 0,05$).

Na tabela 6 estão apresentadas as correlações para o grupo CS. Com exceção da semana 1 que não apresentou correlação significativa com nenhuma das demais semanas da fase de livre escolha e da semana 3 que somente apresentou correlação significativamente com as semanas 2, 4, 5, 7 e 8, foram observadas correlações positivas significantes entre o consumo de água em todas as demais semanas ($p \leq 0,05$).

TABELA 6 – CORRELAÇÕES ENTRE O CONSUMO DE ÁGUA NAS DEZ SEMANAS DA FASE DE LIVRE ESCOLHA PARA O GRUPO CONTROLE DA SENSIBILIZAÇÃO.

	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10
S 1	0,13	0,49	0,22	0,22	-0,07	0,17	0,29	0,22	0,39
S 2		0,76*	0,83*	0,67*	0,71*	0,82*	0,75*	0,77*	0,67*
S 3			0,82*	0,75*	0,50	0,78*	0,69*	0,61	0,58
S 4				0,87*	0,82*	0,94*	0,90*	0,87*	0,82*
S 5					0,76*	0,92*	0,82*	0,75*	0,68*
S 6						0,92*	0,91*	0,94*	0,84*
S 7							0,94*	0,93*	0,84*
S 8								0,98*	0,96*
S 9									0,96*

NOTA: Valores das correlações (r) entre o consumo de água (ml) nas da fase de livre escolha. Os códigos significam semana 1 a semana 10 (s1 a s10). Símbolo representa: (*) correlação positiva significativa entre a semana na coluna com a semana na linha correspondente. Correlação de Pearson ($p \leq 0,05$).

Na tabela 7 estão apresentadas as correlações para o grupo NS. Foram observadas correlações positivas significantes entre o consumo de água na semana 1 e 2; semana 3 com 4, 5, 7, 8, 9 e 10; semana 4 com 5, 6, 7, 8, 9 e 10; semana 5 com 6, 7, 9 e 10; semana 6 com 7, 9 e 10; semana 7 com 9 e 10; semana 8 com 9 e semana 9 com 10 ($p \leq 0,05$).

TABELA 7 – CORRELAÇÕES ENTRE O CONSUMO DE ÁGUA NAS DEZ SEMANAS DA FASE DE LIVRE ESCOLHA PARA O GRUPO NÃO-SENSIBILIZADO.

	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10
S 1	0,72*	0,44	0,13	0,04	-0,08	0,24	0,34	0,11	0,04
S 2		0,65	0,35	0,24	0,04	0,48	0,55	0,25	0,13
S 3			0,88*	0,85*	0,68	0,75*	0,74*	0,74*	0,79*
S 4				0,90*	0,79*	0,78*	0,76*	0,81*	0,78*
S 5					0,88*	0,73*	0,54	0,78*	0,88*
S 6						0,82*	0,63	0,92*	0,87*
S 7							0,85*	0,92*	0,67
S 8								0,85*	0,65
S 9									0,84*

NOTA: Valores das correlações (r) entre o consumo de água (ml) nas da fase de livre escolha. Os códigos significam semana 1 a semana 10 (s1 a s10). Símbolo representa: (*) correlação positiva significativa entre a semana na coluna com a semana na linha correspondente. Correlação de Pearson ($p \leq 0,05$).

Na tabela 8 estão apresentadas as correlações para o grupo S. Foram observadas correlações positivas significantes entre o consumo de água na semana 1 com 2, 6, 7 e 8; semana 2 com 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10, semana 3 com 4 e 6; semana 4 com 6; semana 5 com 6, 7, 8, 9 e 10; semana 6 com 7, 8, 9 e 10; semana 7 com 8, 9 e 10; semana 8 com 9 e 10 e semana 9 com 10 ($p \leq 0,05$).

TABELA 8 – CORRELAÇÕES ENTRE O CONSUMO DE ÁGUA NAS DEZ SEMANAS DA FASE DE LIVRE ESCOLHA PARA O GRUPO SENSIBILIZADO.

	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10
S 1	0,71*	0,68	0,38	0,46	0,74*	0,77*	0,77*	0,68	0,79
S 2		0,96*	0,88*	0,93*	0,93*	0,81*	0,84*	0,81*	0,82*
S 3			0,78*	0,86*	0,82*	0,66	0,71	0,64	0,67
S 4				0,93*	0,80*	0,66	0,64	0,68	0,63
S 5					0,89*	0,76*	0,72*	0,76*	0,73*
S 6						0,96*	0,94*	0,95*	0,96*
S 7							0,94*	0,97*	0,99*
S 8								0,97*	0,98*
S 9									0,99*

NOTA: Valores das correlações (r) entre o consumo de água (ml) nas da fase de livre escolha. Os códigos significam semana 1 a semana 10 (s1 a s10). Símbolo representa: (*) correlação positiva significativa entre a semana na coluna com a semana na linha correspondente. Correlação de Pearson ($p \leq 0,05$).

Com exceção do grupo NS, os demais grupos apresentaram correlações positivas significantes entre as semanas 6, 7, 8, 9 e 10. Desta forma, assim como definido para o consumo de etanol, os valores relacionados à fase de livre escolha levarão em consideração apenas o consumo dos animais nas últimas cinco semanas desta fase experimental.

5.2.2.2 Consumo de água nas fases experimentais de livre escolha, de abstinência e de reapresentação

Na Figura 6 está apresentado o consumo de água (ml) dos grupos CI, CS, NS e S ao longo do tratamento (A) e o consumo médio de água em cada fase experimental (fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação) durante o modelo de auto-administração.

Através de ANOVA de duas vias foi observado diferença significativa no consumo de água (ml) ($F(8,288) = 24,90$; $p \leq 0,001$) ao longo do tratamento (últimas cinco semanas da fase de livre escolha, duas semanas da fase de abstinência e duas semanas da fase de reapresentação) e no fator interação entre os grupos experimentais e as semanas experimentais ($F(24,288) = 2,65$; $p \leq 0,001$). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais ($F(3,36) = 2,64$; $p = 0,06$) (Figura 6A).

A diferença significativa no consumo de água ao longo do tratamento ocorreu para todos os grupos com livre escolha, CS ($F(8,72) = 5,05$; $p \leq 0,001$), NS ($F(8,72) = 7,63$; $p \leq 0,001$) e S ($F(8,72) = 13,43$; $p \leq 0,001$). Esta diferença se refere a um maior consumo de água nas duas semanas da fase de abstinência (semanas 11 e 12) quando comparadas com todas as demais semanas. Grupo CS: consumo maior na semana 11 do que nas semanas 6 ($p \leq 0,001$), 7 ($p \leq 0,005$), 8 ($p \leq 0,05$), 9 ($p \leq 0,01$), 10 ($p \leq 0,05$), 13 ($p \leq 0,05$) e 14 ($p \leq 0,01$) e consumo maior na semana 12 do que nas semanas 6 e 7 ($p \leq 0,005$) e 8, 9, 10, 13 e 14 ($p \leq 0,05$). Grupo NS: consumo maior na semana 11 do que nas semanas 6, 7, 8 e 9 ($p \leq 0,001$), 10 e 13 ($p \leq 0,005$) e 14 ($p \leq 0,05$) e consumo maior na semana 12 do que nas semanas 6, 7, 8 e 9 ($p \leq 0,001$), 10 ($p \leq 0,005$), 13 ($p \leq 0,01$) e 14 ($p \leq 0,05$). Grupo S: consumo maior na semana 11 e 12 quando comparadas com todas as demais semanas ($p \leq 0,001$).

ANOVA de um via demonstrou diferença significativa no consumo de água entre os quatro grupos experimentais nas semanas 6 ($F(3,36) = 3,59$; $p \leq 0,05$), 7 ($F(3,36) = 3,88$; $p \leq 0,05$), 9 ($F(3,36) = 3,24$; $p \leq 0,05$), 10 ($F(3,36) = 3,06$; $p \leq 0,05$), 13 ($F(3,36) = 2,87$; $p \leq 0,05$) e 14 ($F(3,36) = 3,20$; $p \leq 0,05$). O grupo CI apresentou um

consumo de água significativamente maior em relação aos demais grupos nas semanas 6 ($p \leq 0,05$) e 7 (CS e S, $p \leq 0,05$ e NS $p \leq 0,01$), aos grupos CS e S na semana 9 ($p \leq 0,05$), aos grupos CS e NS na semana 10 ($p \leq 0,05$), e ao grupo CS na semana 13 ($p \leq 0,05$) e S na semana 14 ($p \leq 0,05$).

ANOVA de duas vias não apresentou diferenças significativas no consumo médio de água (ml) nas três fases experimentais (fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação) entre os quatro grupos experimentais ($F(3,36) = 2,23$; $p = 1,01$), porém foram observadas diferenças significativas entre as três fases experimentais ($F(2,72) = 31,38$; $p \leq 0,001$) e no fator interação entre os grupos experimentais e as fases experimentais ($F(6,72) = 3,48$; $p \leq 0,005$) (Figura 6B).

A diferença significativa no consumo de água entre as fases experimentais ocorreu para os grupos CS ($F(2,18) = 5,81$; $p \leq 0,01$), NS ($F(2,18) = 9,60$; $p \leq 0,005$) e S ($F(2,18) = 17,07$; $p \leq 0,001$). Esta diferença se refere a um maior consumo de água na fase de abstinência quando comparada com as demais fases; CS ($p \leq 0,05$), NS (livre escolha - $p \leq 0,001$ e reapresentação $p \leq 0,05$) e S ($p \leq 0,001$).

ANOVA de um via demonstrou diferença significativa no consumo de água entre os quatro grupos experimentais nas fases de livre escolha ($F(3,36) = 3,23$; $p \leq 0,05$) e de reapresentação ($F(3,36) = 3,07$; $p \leq 0,05$). Os animais do grupo CI apresentaram um consumo de água superior aos grupos CS e NS na fase de livre escolha e superior ao grupo S na fase de reapresentação ($p \leq 0,05$; para todos os grupos).

A interação ocorreu devido a este aumento no consumo de água na fase de abstinência para os grupos com livre escolha em contraste com o consumo constante apresentado pelo grupo CI.

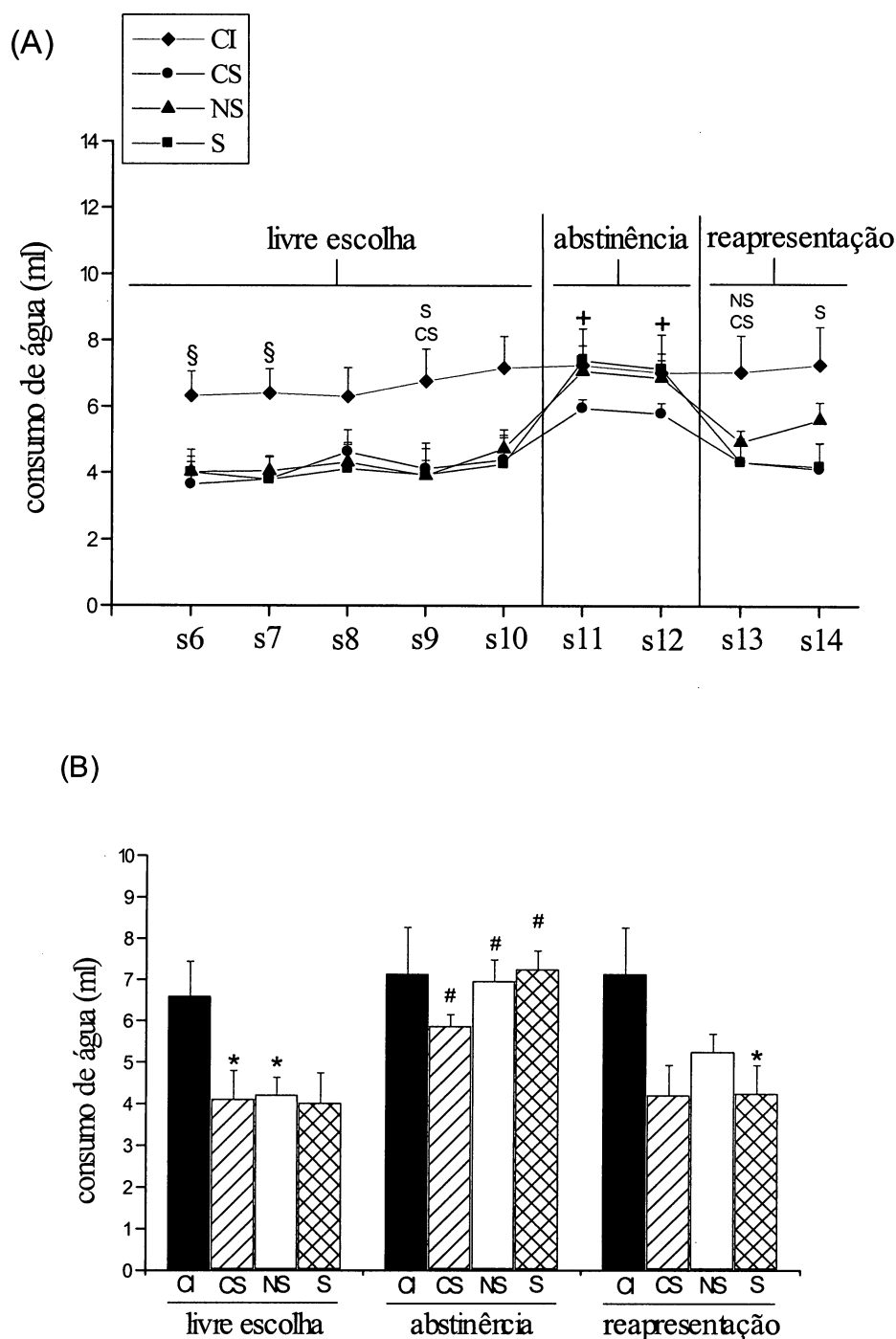


FIGURA 6 - Consumo de água durante as fases experimentais. (A) Média ± erro padrão semanal do consumo diário de água (ml) dos animais dos quatro grupos experimentais: (CI) controle do isolamento, (CS) controle da sensibilização, (NS) não-sensibilizado, (S) sensibilizado. (s6 a s14) semanas do modelo de auto-administração. (B) Média ± erro padrão do consumo de água (ml) dos grupos experimentais durante as fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação. Símbolos representam: (+) difere do consumo do grupo nas demais semanas experimentais, (§) difere do consumo dos demais grupos na mesma semana, (CS) difere do consumo do grupo CS na mesma semana, (NS) difere do consumo do grupo NS na mesma semana, (S) difere do consumo do grupo S na mesma semana, (#) difere do consumo apresentado pelo grupo nas demais fases experimentais (*) difere do grupo controle do isolamento. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

5.2.3 Análise da preferência de consumo por etanol ou por água

A Figura 7 apresenta a porcentagem do consumo de água ou etanol dos três grupos submetidos ao paradigma de livre escolha (CS, NS e S), durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas).

Não houve diferença significativa entre os grupos experimentais tanto para o consumo de água como para o consumo de etanol ($F(2,27) = 0,21$; $p=0,81$).

Não foram observadas diferenças significativas entre o consumo de água e etanol para cada grupo experimental, CS ($t = 0,63$; $p=0,54$), NS ($t = 1,08$; $p=0,29$) e S ($t = 0,34$; $p=0,74$).

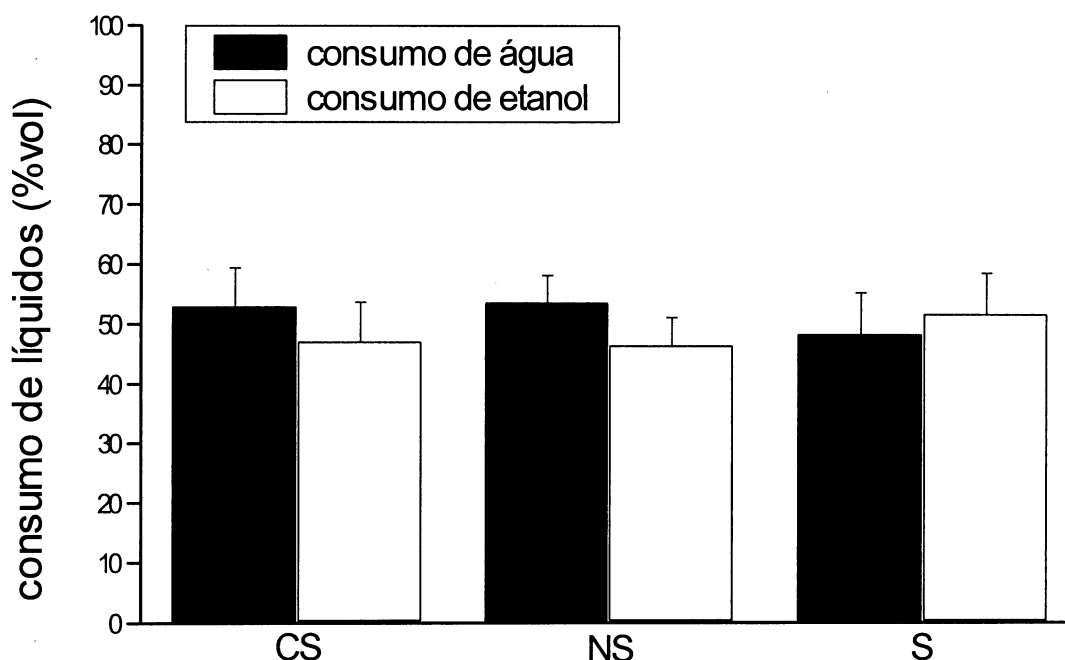


FIGURA 7 - **Preferência de consumo por água ou por etanol.** Média $\pm$ erro padrão da porcentagem do consumo de água ou etanol em relação ao total de líquidos para os três grupos experimentais com livre escolha, durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). ANOVA; Teste “t” de Student para amostras independentes, ($p>0,05$).

5.2.4 Estudo dos padrões individuais de consumo de etanol

Ao final do modelo de auto-administração de etanol os animais foram classificados em três padrões de consumo (consumidor leve, consumidor pesado ou consumidor com recaída) de acordo com os seguintes critérios:

Consumidor leve	▪ Animais que consumiram preferencialmente água, ou seja, o consumo de água foi significativamente maior quando comparado ao de etanol.
Consumidor pesado	▪ Animais que consumiram preferencialmente etanol, ou seja, o consumo de etanol foi significativamente maior quando comparado ao de água. ▪ O consumo de etanol durante a fase de reapresentação foi significativamente inferior ao consumo durante a fase de livre escolha ou não foi significativamente diferente.
Consumidor com recaída	▪ Animais que consumiram preferencialmente etanol, ou seja, o consumo de etanol foi significativamente maior quando comparado ao de água. ▪ O consumo de etanol durante a fase de reapresentação foi significativamente superior ao consumo durante a fase de livre escolha.

5.2.4.1 Grupo controle da sensibilização (CS)

5.2.4.1.1 Consumidor Leve

As Figuras 8.1 a 8.10 apresentam os gráficos do padrão de consumo individual de cada animal do grupo previamente classificado como CS.

As Figuras 8.1 a 8.6 mostram os gráficos de consumo individual dos animais com padrão de consumidor leve (G5, G8, G11, G24, G25 e G27, respectivamente).

Os animais G5 ($t = 10,43$; $p \leq 0,001$), G8 ($t = 28,26$; $p \leq 0,001$), G11 ($t = 3,82$; $p \leq 0,001$), G24 ($t = 64,33$; $p \leq 0,001$), G25 ($t = 10,79$; $p \leq 0,001$) e G27 ($t = 7,48$; $p \leq 0,001$) apresentaram um consumo de água significativamente maior do que o consumo de etanol (%vol).

Com exceção do animal G11 ($t = 3,07$; $p \leq 0,01$) que apresentou um consumo significativamente maior de etanol (g/kg/dia) na fase de livre escolha quando comparado com a fase de reapresentação e do animal G27 ($t = 3,51$; $p \leq 0,005$) que, ao contrário, apresentou um consumo significativamente maior de etanol na fase de reapresentação do que na de livre escolha, os demais animais não apresentaram diferença significativa no consumo de etanol entre estas fases.

Os animais G5, G8 e G24 não apresentaram diferenças significativas no consumo de água entre as três fases experimentais. O animal G11 ($F(2,60) = 15,89$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo de água significativamente inferior na fase de livre escolha quando comparado com as demais fases. O animal G25 apresentou um consumo significativamente superior de água na fase de abstinência em comparação com as demais fases e um consumo significativamente superior na fase de reapresentação quando comparado com a de livre escolha. O animal G27 ($F(2,60) = 36,23$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo de água significativamente inferior na fase de reapresentação do que nas demais fases.

Os animais G5 ($F(2,60) = 10,48$; $p \leq 0,001$), G8 ($F(2,60) = 11,96$; $p \leq 0,001$) e G24 ($F(2,60) = 9,57$; $p \leq 0,001$) apresentaram um consumo total de líquidos significativamente menor na fase de abstinência quando comparado as demais fases. O animal G11 ($F(2,60) = 11,80$; $p \leq 0,001$) apresentou um maior consumo de líquidos na fase de reapresentação do que nas demais fases. O animal G25 não apresentou diferença significativa no consumo total de líquidos entre as fases experimentais. O animal G27 ($F(2,60) = 6,07$; $p \leq 0,005$) apresentou um consumo total de líquidos significativamente superior na fase de livre escolha quando comparado com as demais fases.

As Figuras 3 a 8 no apêndice 3 apresentam os gráficos de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração dos animais G5, G8, G11, G24, G25 e G27, respectivamente.

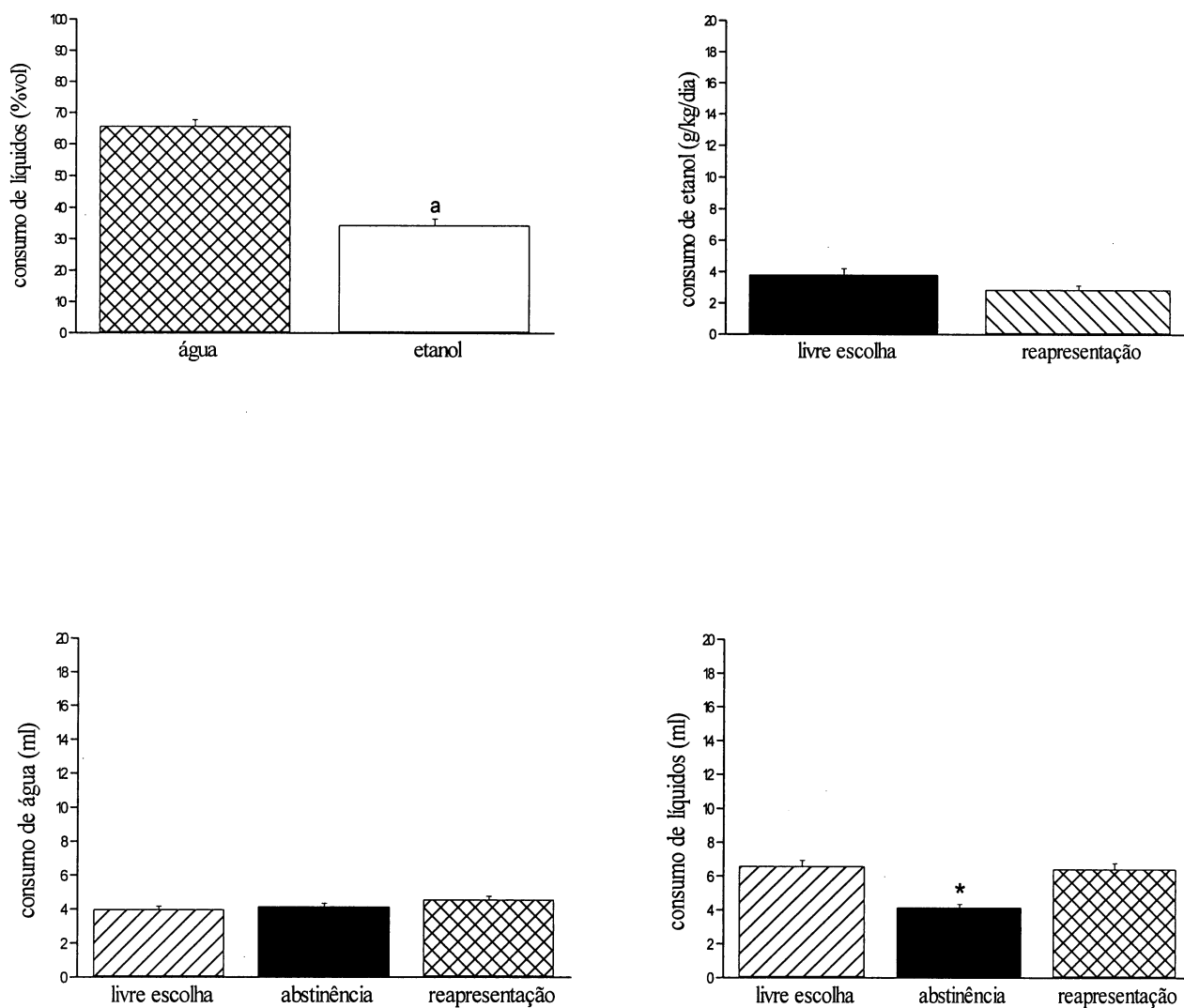


FIGURA 8.1 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G5 (consumidor leve).

Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha mais fase de reapresentação). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

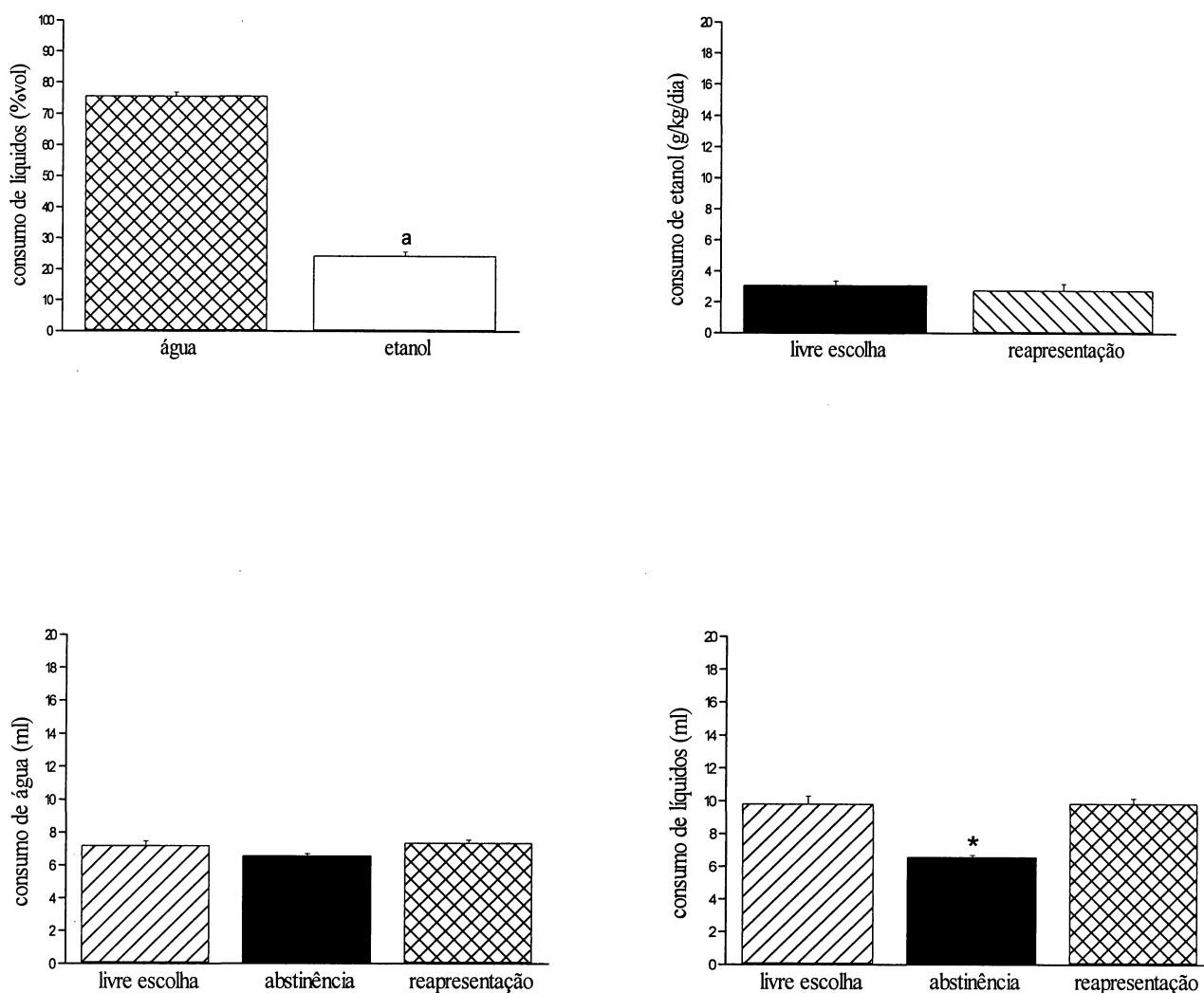


FIGURA 8.2 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G8 (consumidor leve).

Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

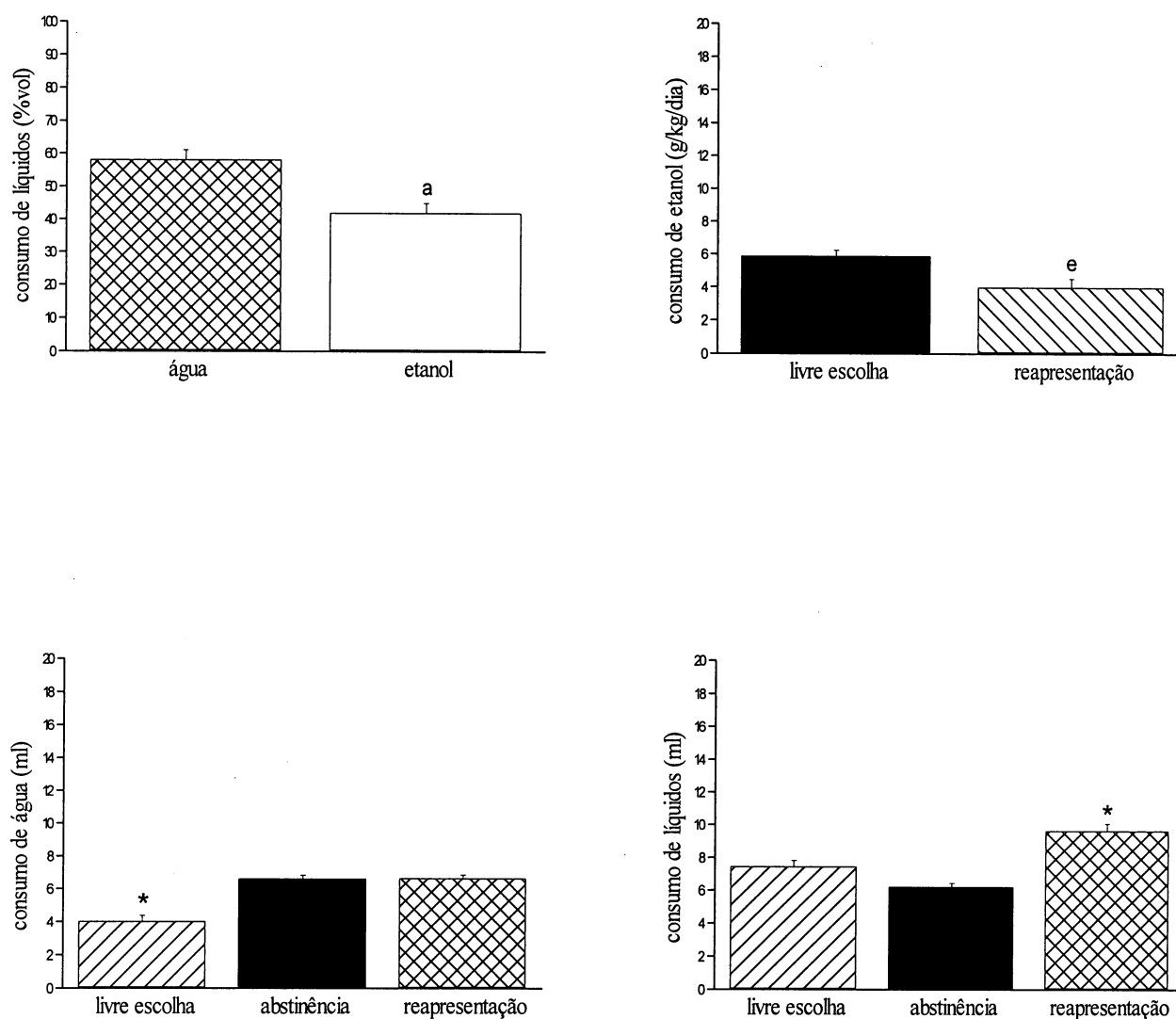


FIGURA 8.3 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G11 (consumidor leve).

Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

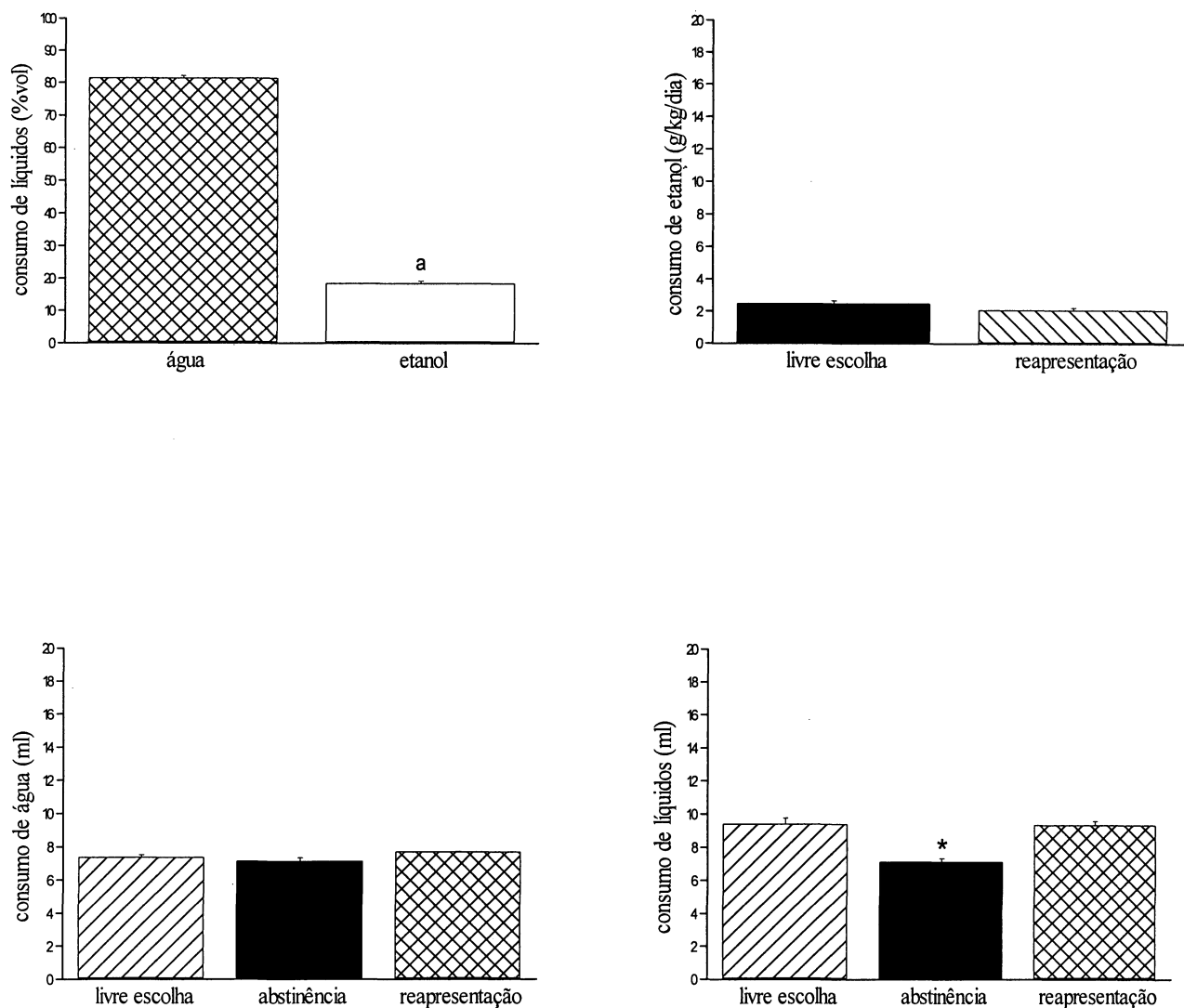


FIGURA 8.4 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G24 (consumidor leve). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

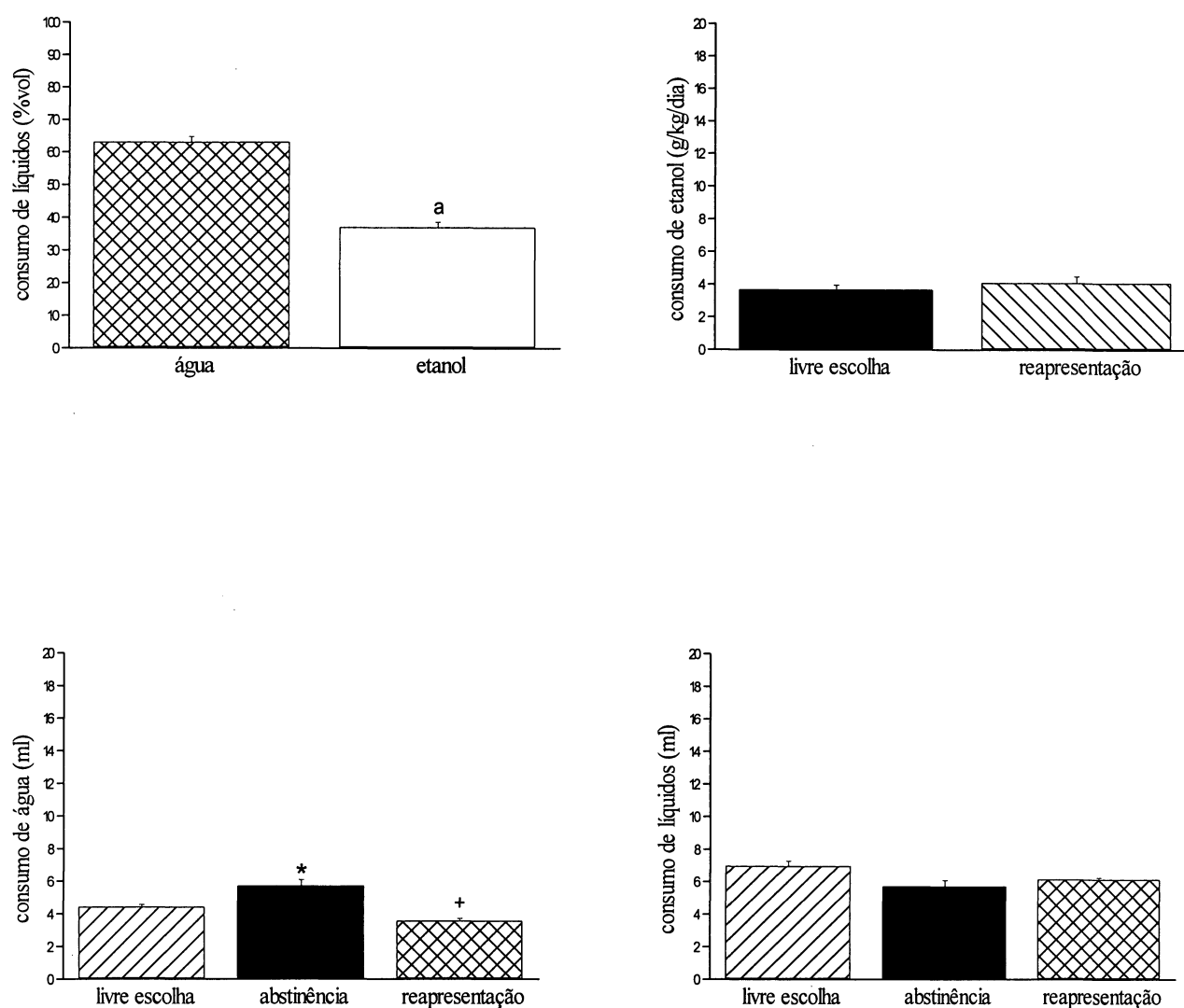


FIGURA 8.5 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G25 (consumidor leve).

Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste "t" de Student para amostras independentes ou dependentes; A NOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

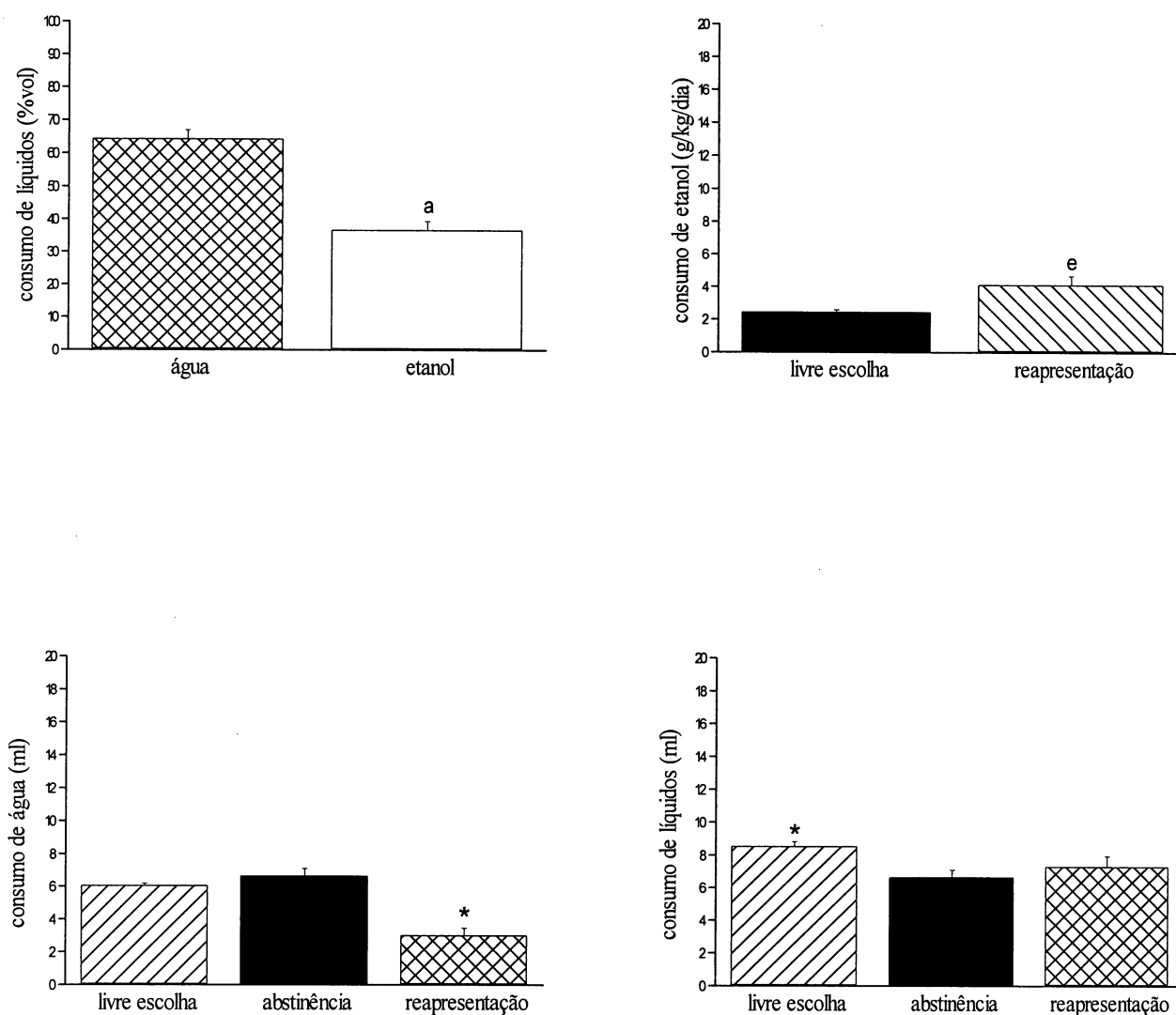


FIGURA 8.6 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G27 (consumidor leve).

Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.1.2 Consumidor Pesado

As Figuras 8.7 e 8.8 mostram os gráficos de consumo individual dos animais com padrão de consumidor pesado (G1 e G10, respectivamente).

Os animais G1 ($t = 14,99$; $p \leq 0,001$) e G10 ($t = 11,56$; $p \leq 0,001$) apresentaram um consumo de etanol significativamente maior do que o consumo de água (%vol).

O animal G1 ($t = 4,27$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo significativamente inferior de etanol (g/kg/dia) na fase de reapresentação quando comparada a fase de livre escolha. O animal G10 não apresentou diferença significativa no consumo de etanol entre estas fases.

Ambos apresentaram um consumo de água (ml) significativamente superior na fase de abstinência quando comparado com as demais fases, G1 ($F(2,60) = 45,40$; $p \leq 0,001$) e G10 ($F(2,60) = 59,48$; $p \leq 0,001$). O animal G10 apresentou um consumo de água significativamente superior na fase de reapresentação do que na de livre escolha.

O animal G1 ($F(2,60) = 8,81$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo total de líquidos significativamente superior na fase de livre escolha em comparação com as demais fases. O animal G10 ($F(2,60) = 15,49$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo significativamente superior na fase de reapresentação em relação as demais fases.

As Figuras 9 e 10 no apêndice 4 apresentam os gráficos de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração dos animais G1 e G10, respectivamente.

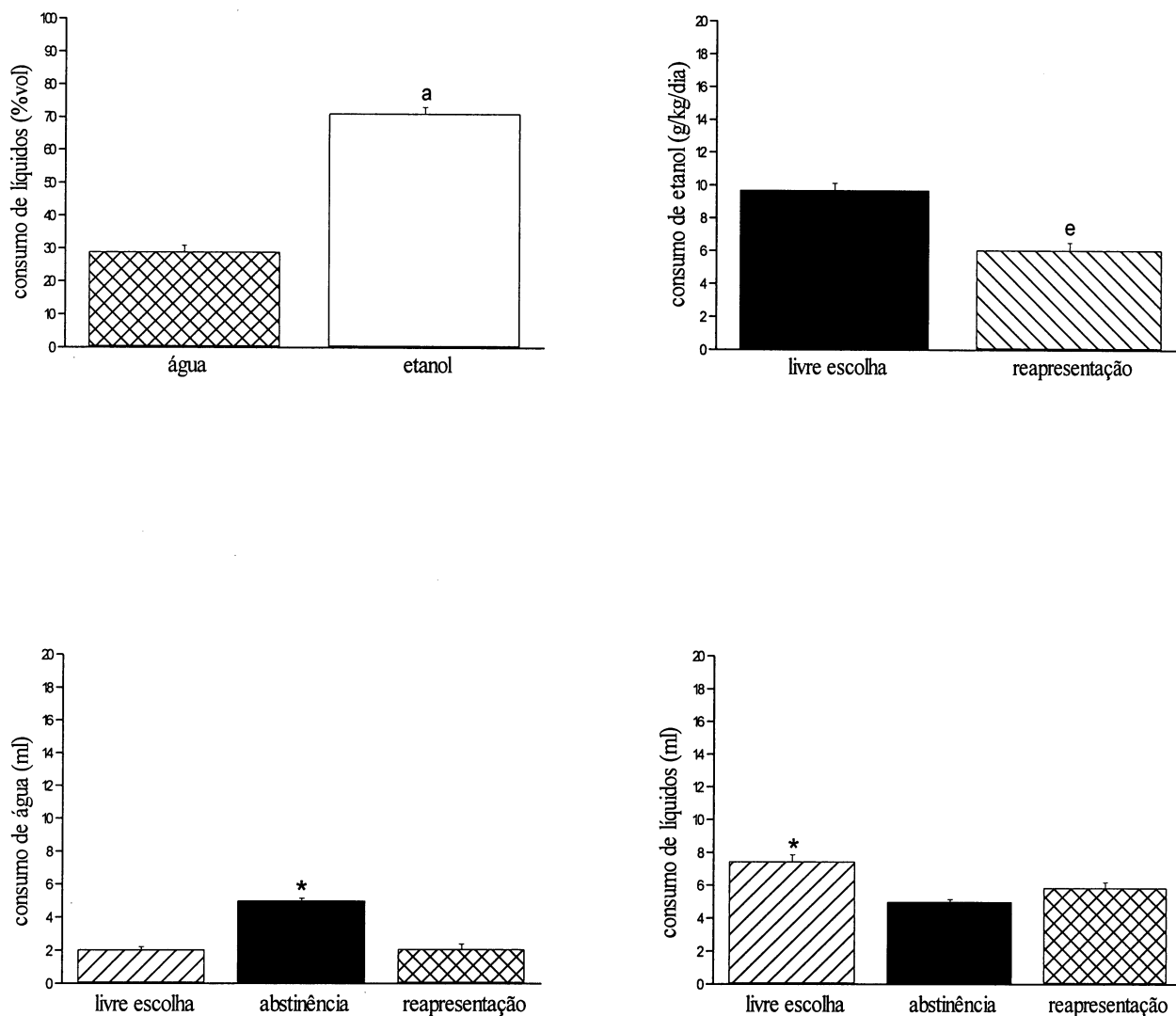


FIGURA 8.7 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G1 (consumidor pesado). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

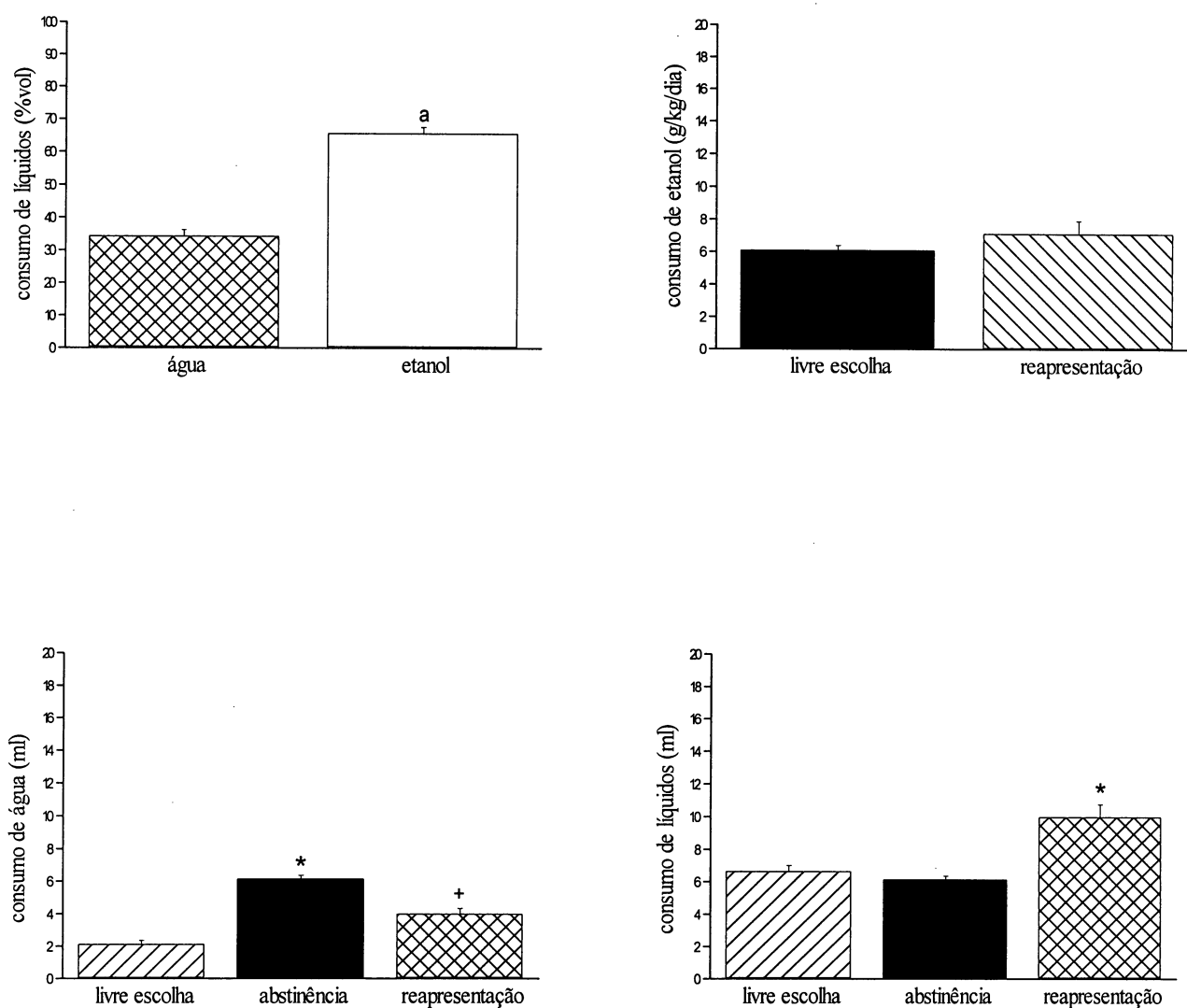


FIGURA 8.8 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G10 (consumidor pesado). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.1.3 Consumidor com Recaída

As Figuras 8.9 e 8.10 mostram os gráficos de consumo individual dos animais com padrão de consumidor com recaída (G17 e G20, respectivamente).

Os animais G17 ($t = 2,76; p \leq 0,01$) e G20 ($t = 59,78; p \leq 0,001$) apresentaram um consumo significativamente superior de etanol com relação à água (%vol). Além disso, o consumo de etanol (g/kg/dia) destes animais na fase de reapresentação foi significativamente superior ao consumo na fase de livre escolha, G17 ($t = 3,41; p \leq 0,005$) e G20 ($t = 6,24; p \leq 0,001$).

Ambos apresentaram um consumo significativamente superior de água (ml) na fase de abstinência quando comparado com as demais fases, G17 ($F(2,60) = 39,68; p \leq 0,001$) e G20 ($F(2,60) = 451,08; p \leq 0,001$). O animal G17 apresentou um consumo de água significativamente inferior na fase de reapresentação em relação à fase de livre escolha.

Os dois animais apresentaram um consumo total de líquidos (ml) significativamente superior na fase de reapresentação quando comparado com a fase de abstinência, G17 ($F(2,60) = 4,26; p \leq 0,05$) e G20 ($F(2,60) = 3,58; p \leq 0,05$).

As Figuras 11 e 12 no apêndice 5 apresentam os gráficos de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração dos animais G17 e G20, respectivamente.

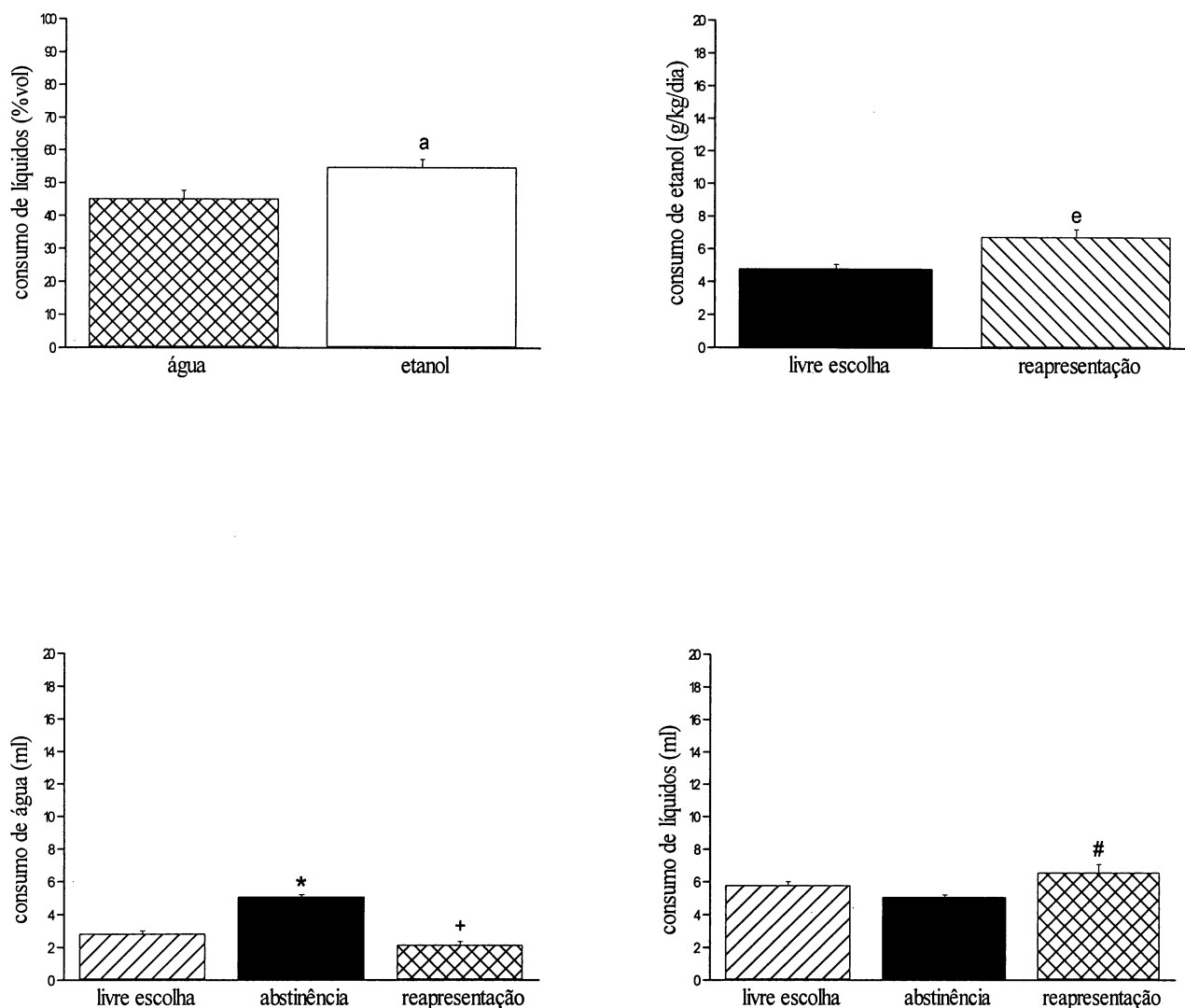


FIGURA 8.9 – **Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G17 (consumidor com recaída)**. Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha, (#) difere da fase de abstinência. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

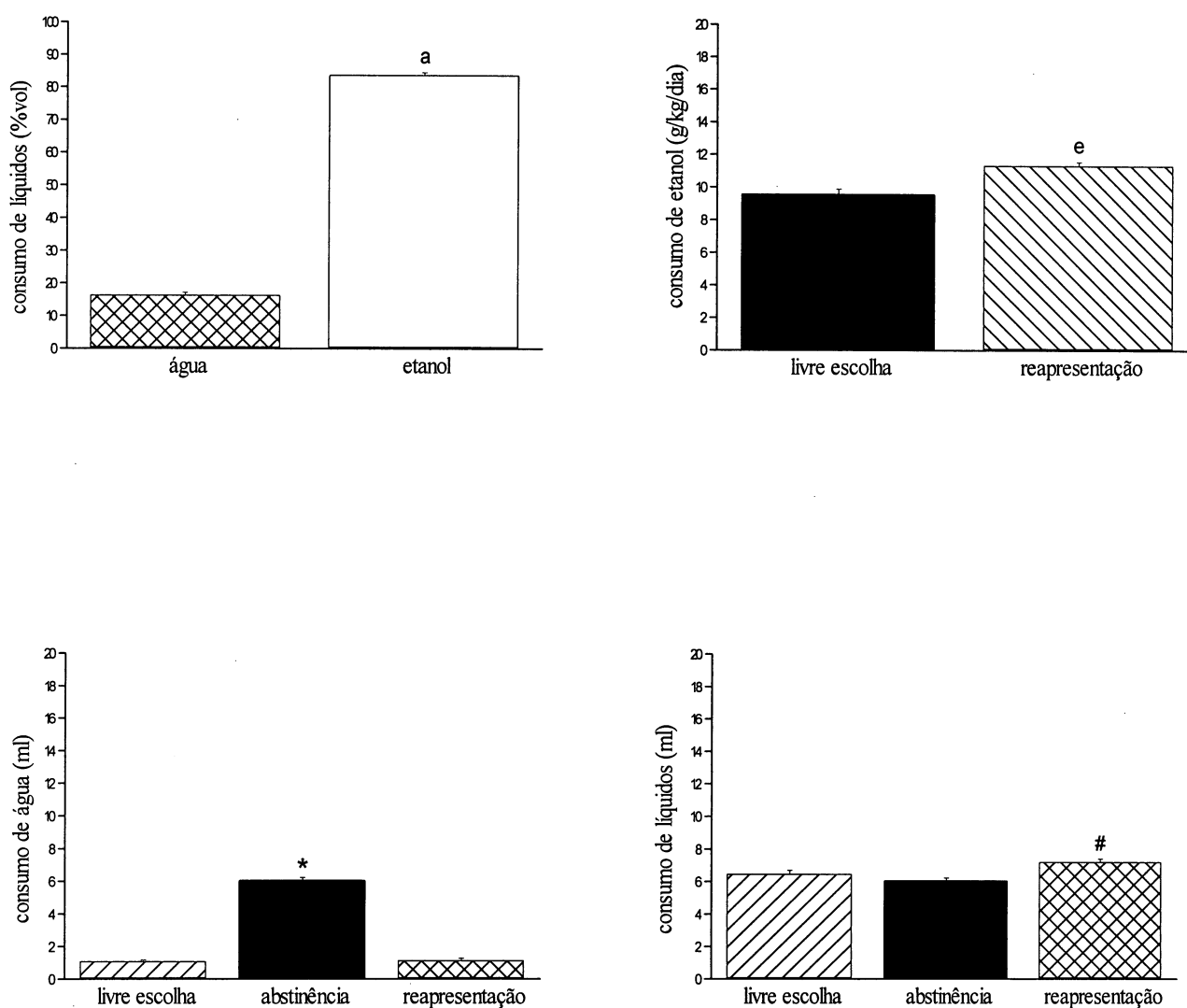


FIGURA 8.10 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G20 (consumidor com recaída). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases, (#) difere da fase de abstinência. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.2 Grupo não-sensibilizado (NS)

5.2.4.2.1 Consumidor Leve

As Figuras 9.1 a 9.10 apresentam os gráficos do padrão de consumo individual de cada animal do grupo previamente classificado como NS.

As Figuras 9.1 a 9.5 mostram os gráficos de consumo individual dos animais com padrão de consumidor leve (G2, G4, G12, G13 e G14, respectivamente).

Os animais G2 ($t = 15,49$; $p \leq 0,001$), G4 ($t = 26,06$; $p \leq 0,001$), G12 ($t = 6,72$; $p \leq 0,001$), G13 ($t = 8,49$; $p \leq 0,001$) e G14 ($t = 23,64$; $p \leq 0,001$) apresentaram um consumo de água significativamente maior do que o consumo de etanol (%vol).

Com exceção do animal G12 ($t = 2,74$; $p \leq 0,05$) que apresentou um consumo significativamente maior de etanol (g/kg/dia) na fase de livre escolha quando comparada a fase de reapresentação, os demais animais não apresentaram diferença significativa no consumo de etanol entre estas duas fases.

Os animais G2 e G14 não apresentaram diferenças significativas no consumo de água (ml) nas três fases experimentais. O animal G4 ($F(2,60) = 4,90$; $p \leq 0,01$) apresentou um consumo de água significativamente inferior na fase de abstinência quando comparado com as demais fases. O animal G12 ($F(2,60) = 12,91$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo de água significativamente inferior na fase de livre escolha quando comparado com as demais fases. O animal G13 ($F(2,60) = 27,94$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo de água significativamente superior na fase de abstinência em relação as demais fases.

Os animais G4 ($F(2,60) = 14,00$; $p \leq 0,001$), G12 ($F(2,60) = 3,62$; $p \leq 0,05$) e G14 ($F(2,60) = 8,98$; $p \leq 0,001$) apresentaram um consumo total de líquidos significativamente inferior na fase de abstinência quando comparado com as demais fases. O animal G13 não apresentou diferença significativa no consumo total de líquidos entre as fases experimentais. O animal G2 ($F(2,60) = 8,01$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo total de líquidos significativamente superior na fase de livre escolha quando comparado a fase de abstinência.

As Figuras 13 a 17 no apêndice 6 apresentam os gráficos de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração dos animais G2, G4, G12, G13 e G14, respectivamente.

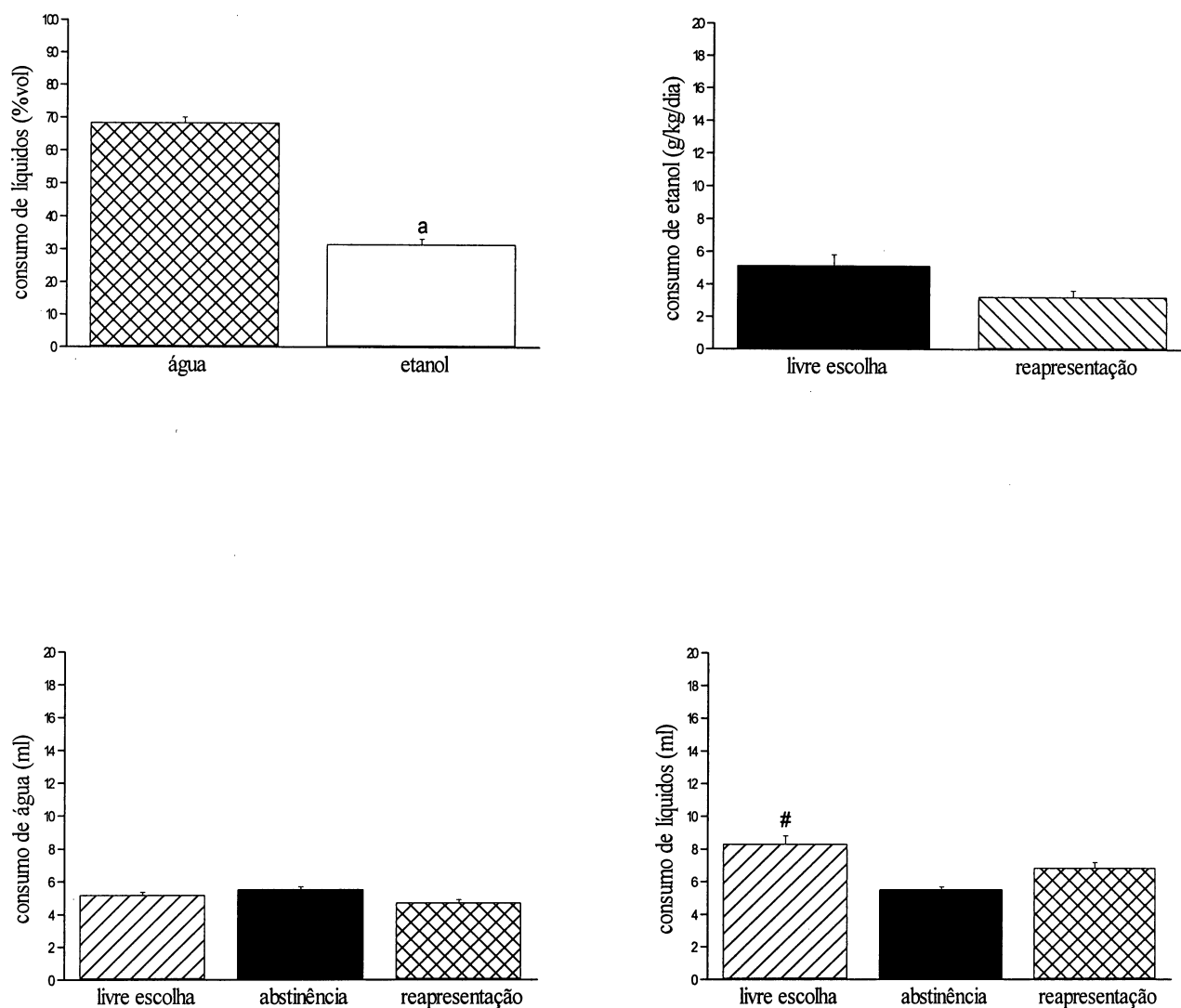


FIGURA 9.1 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G2 (consumidor leve). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (#) difere da fase de abstinência. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

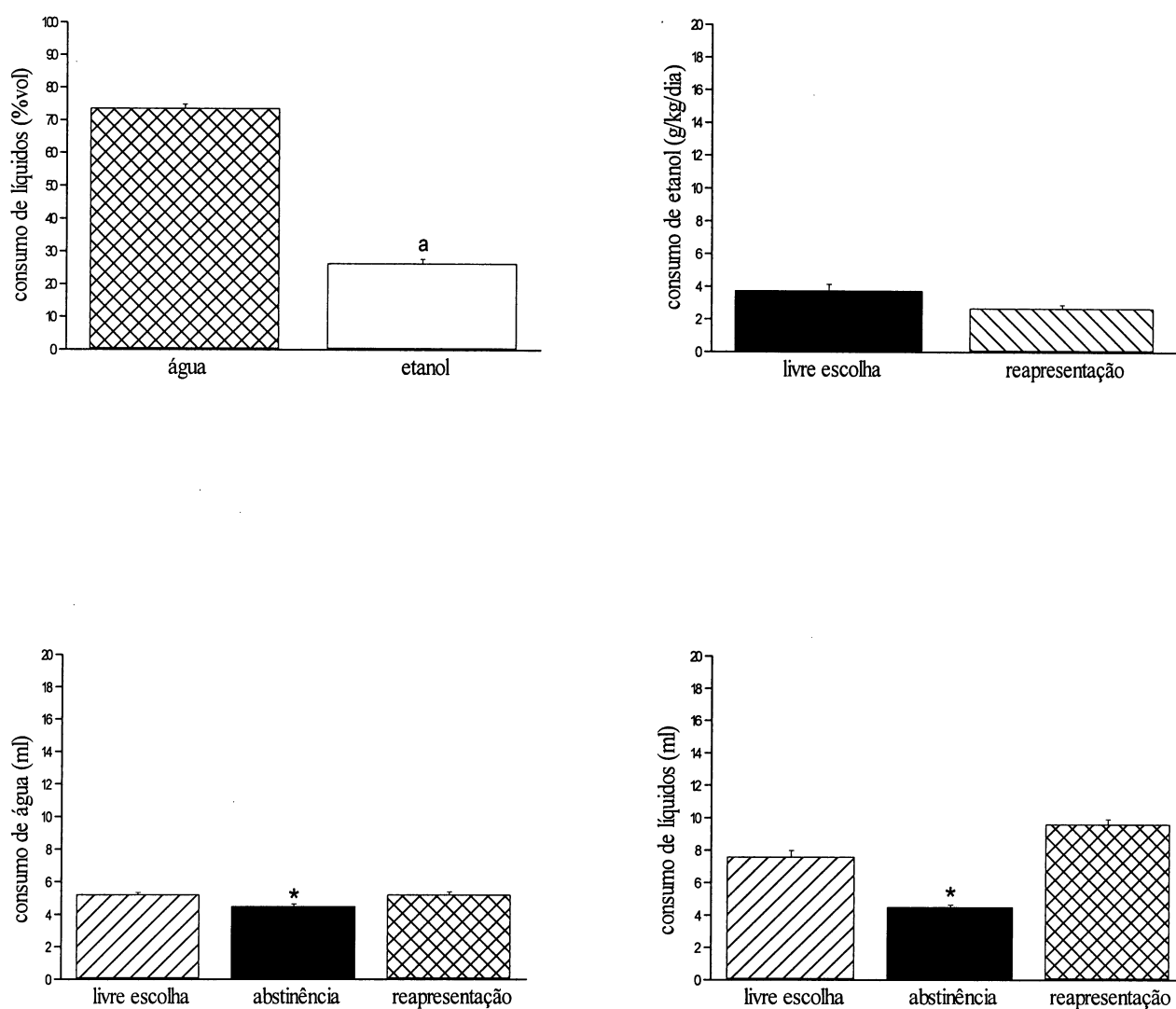


FIGURA 9.2 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G4 (consumidor leve).

Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

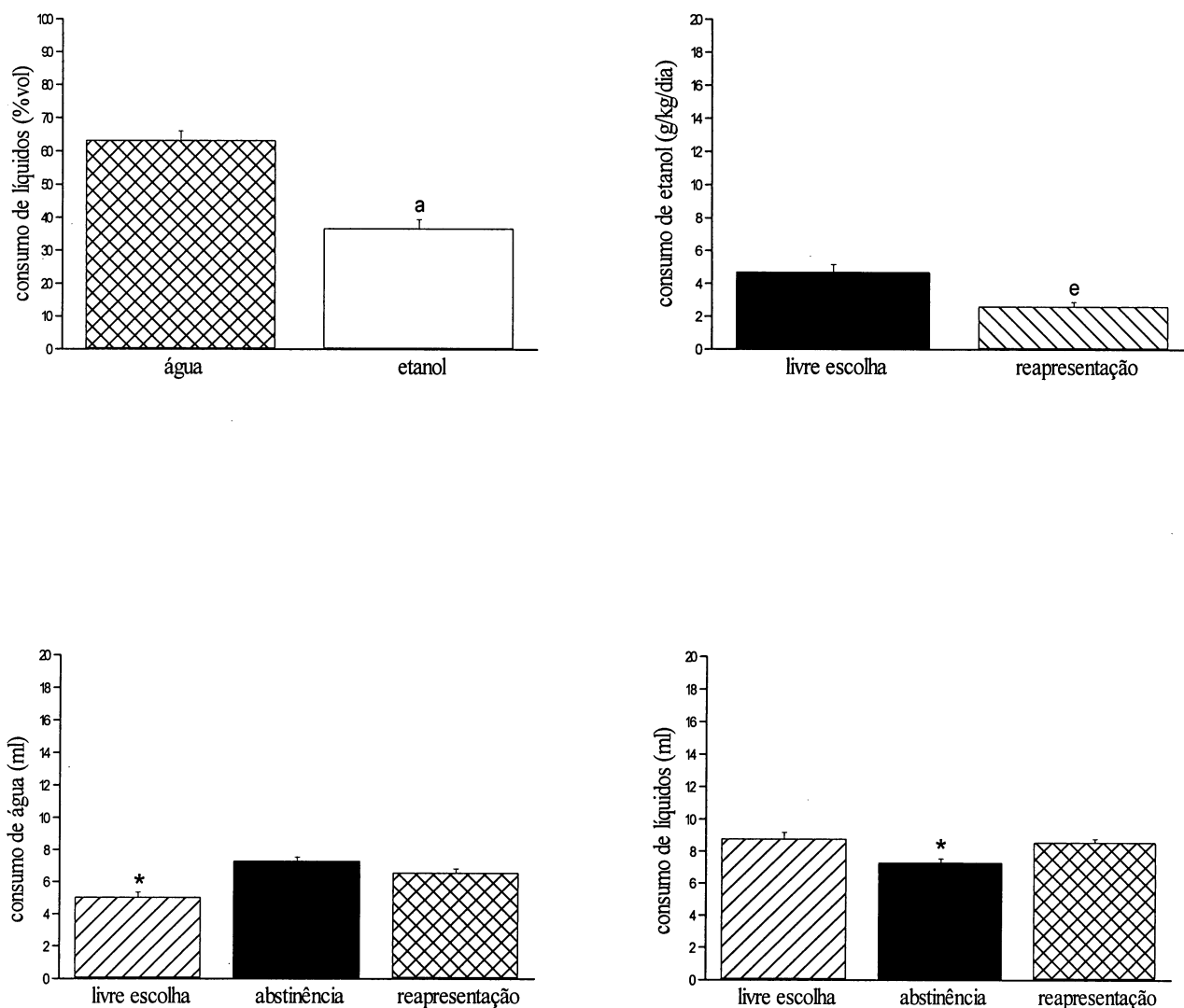


FIGURA 9.3 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G12 (consumidor leve). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

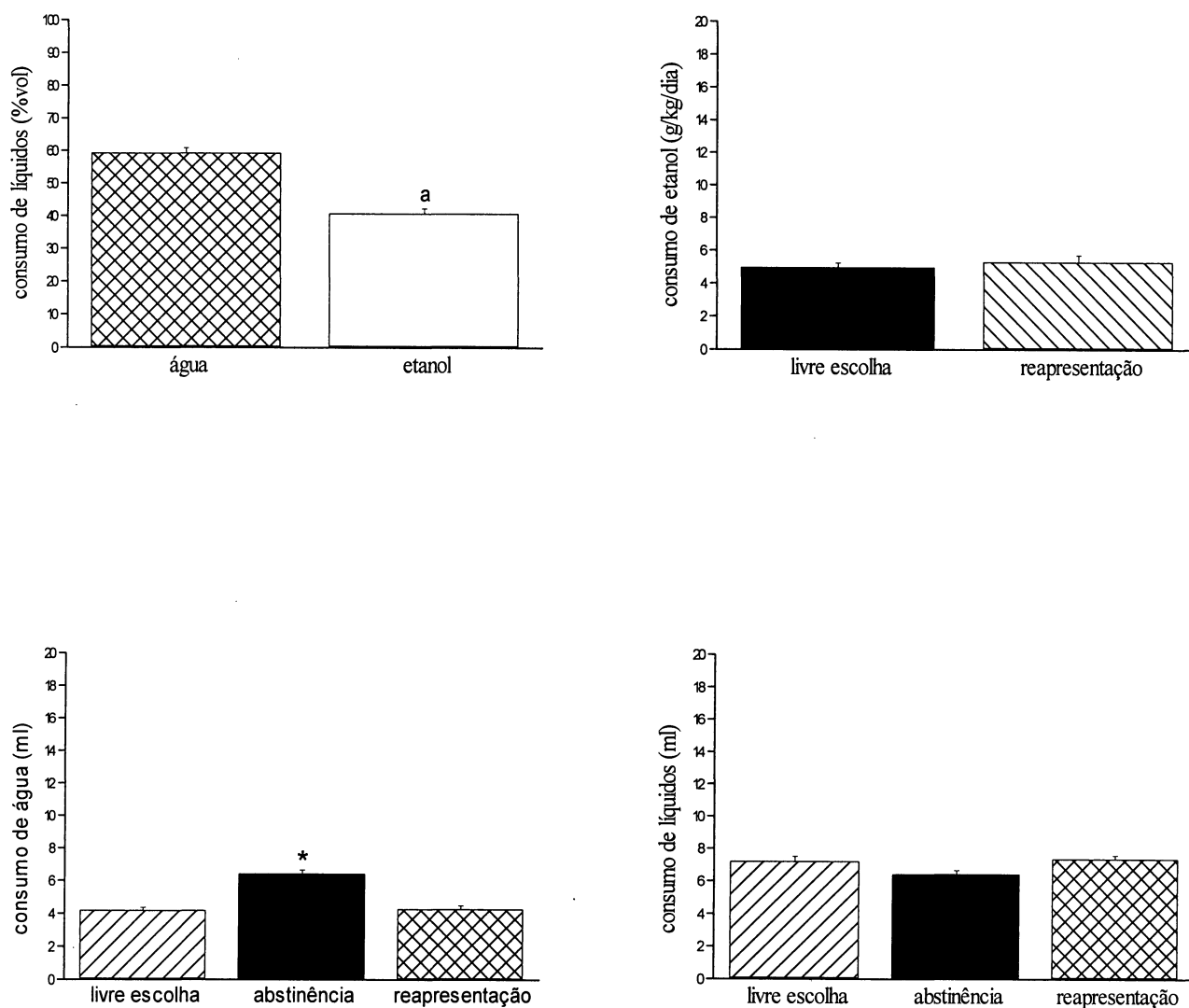


FIGURA 9.4 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G13 (consumidor leve).

Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

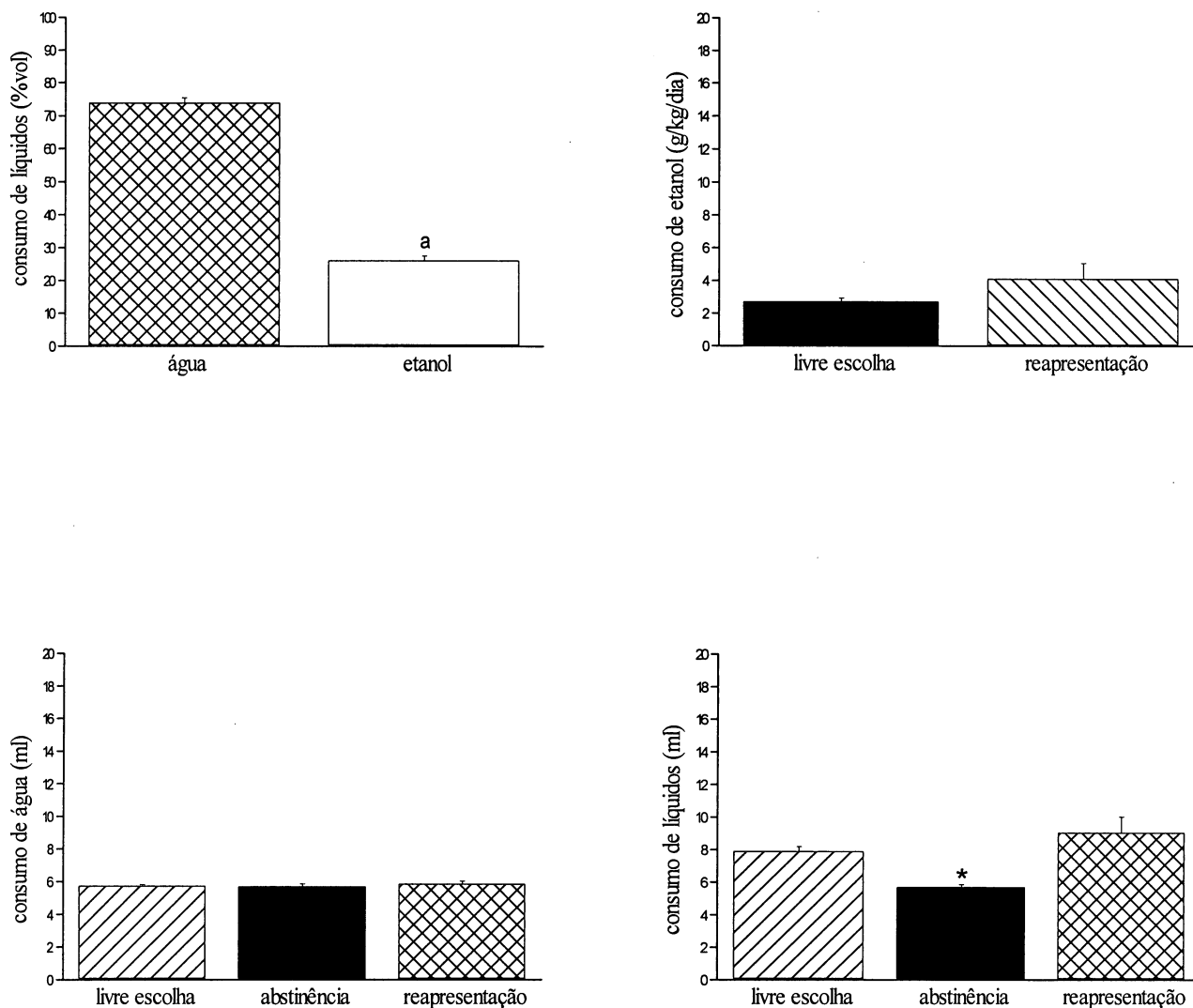


FIGURA 9.5 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G14 (consumidor leve). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.2.2 Consumidor Pesado

As Figuras 9.6 e 9.7 mostram os gráficos de consumo individual dos animais com padrão individual de consumidor pesado (G3 e G18, respectivamente).

Os animais G3 ($t = 5,18$; $p \leq 0,001$) e G18 ($t = 9,02$; $p \leq 0,001$) apresentaram um consumo de etanol significativamente maior do que o consumo de água (%vol).

O animal G18 ($t = 7,44$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo significativamente inferior de etanol (g/kg/dia) na fase de reapresentação quando comparada a fase de livre escolha. O animal G3 não apresentou diferença significativa no consumo de etanol entre estas fases.

Os dois animais apresentaram um consumo de água (ml) significativamente superior na fase de abstinência quando comparado com as demais fases, G3 ($F(2,60) = 36,37$; $p \leq 0,001$) e G18 ($F(2,60) = 141,73$; $p \leq 0,001$). O animal G18 apresentou um consumo de água significativamente superior na fase de reapresentação quando comparado com a fase de livre escolha.

O animal G3 não apresentou diferença no consumo total de líquidos (ml) entre as fases experimentais. O animal G18 ($F(2,60) = 8,81$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo de líquidos significativamente superior na fase de reapresentação em comparação com as demais fases e um consumo significativamente superior na fase de livre escolha em comparação com a fase de abstinência.

As Figuras 18 e 19 no apêndice 7 apresentam os gráficos de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração dos animais G3 e G18, respectivamente.

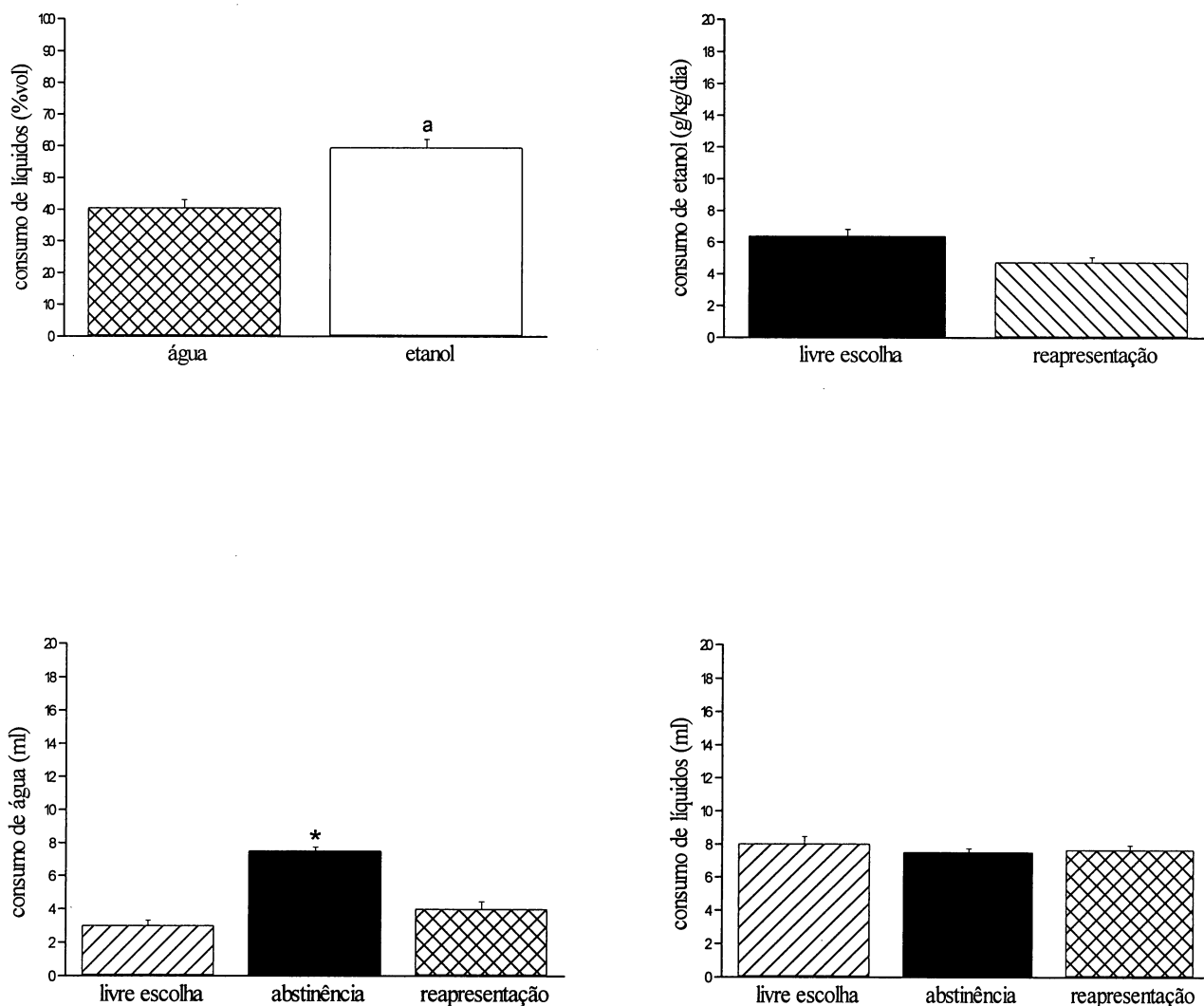


FIGURA 9.6 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G3 (consumidor pesado). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

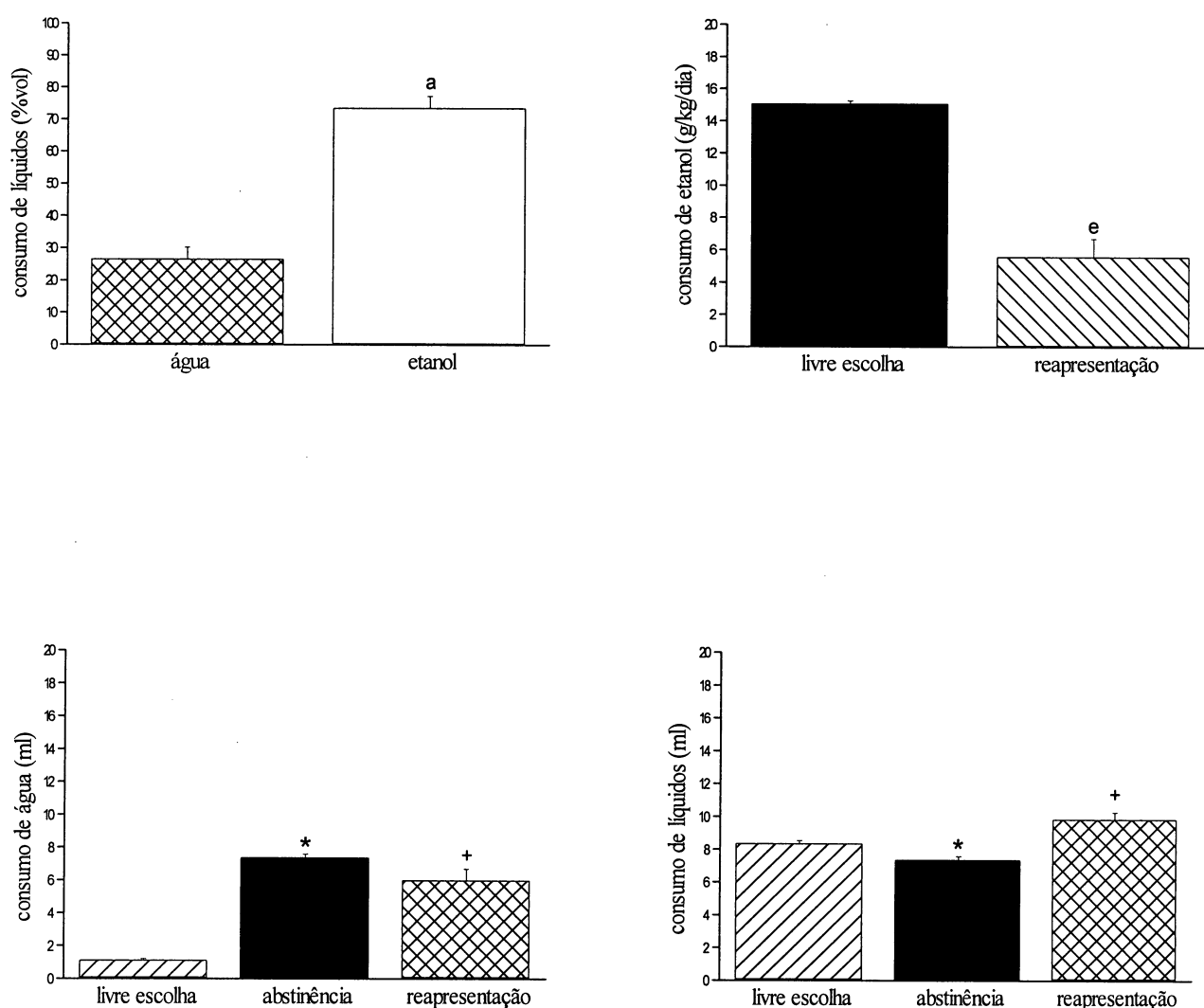


FIGURA 9.7 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G18 (consumidor pesado). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.2.3 Consumidor com Recaída

A Figura 9.8 mostra os gráficos de consumo individual do animal com padrão individual de consumidor com recaída.

O animal G7 ($t = 8,36$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo significativamente superior de etanol com relação à água (%vol). Além disso, seu consumo de etanol (g/kg/dia) na fase de reapresentação foi significativamente superior ao consumo na fase de livre escolha ($t = 7,61$; $p \leq 0,001$).

Este animal apresentou um consumo de água significativamente superior na fase de abstinência quando comparado com as demais fases ($F(2,60) = 10,86$; $p \leq 0,001$).

Foi observado um consumo total de líquidos superior na fase de reapresentação em comparação as demais fases e um consumo superior na fase de livre escolha em comparação com a de abstinência ($F(2,60) = 14,29$; $p \leq 0,001$).

A Figura 20 no apêndice 8 apresenta o gráfico de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração do animal G7.

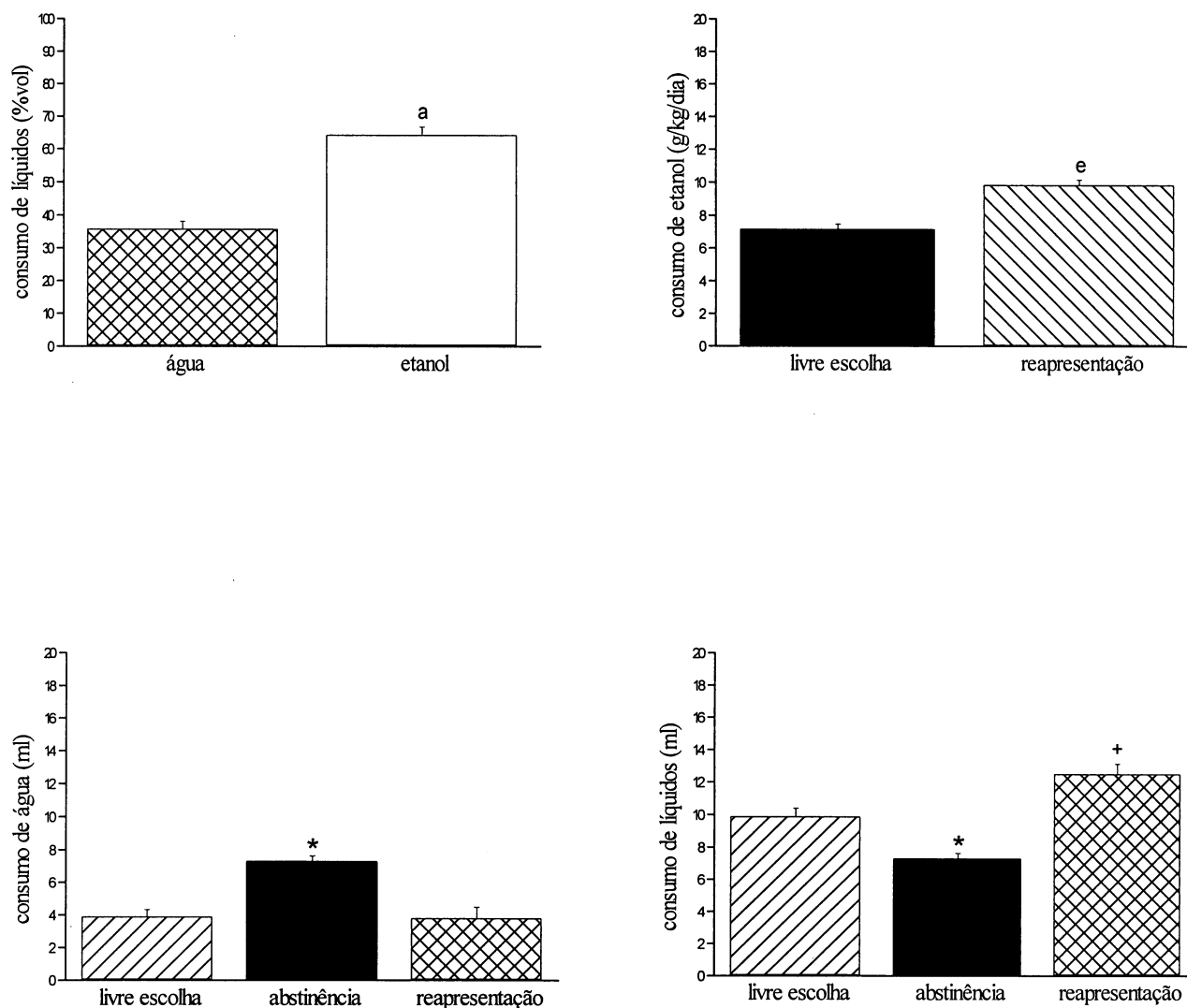


FIGURA 9.8 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G7 (consumidor com recaída). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.2.4 Consumidor Indefinido

As Figuras 9.9 e 9.10 mostram os gráficos de consumo individual dos animais com padrão de consumo indefinido (G22 e G23, respectivamente).

Os animais G22 e G23 não apresentaram uma preferência de consumo entre os líquidos oferecidos (água ou etanol) (%vol).

O animal G22 ($t = 11,06$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo significativamente superior de etanol (g/kg/dia) na fase de livre escolha quando comparada a de reapresentação. O animal G23 não apresentou diferença no consumo de etanol entre estas fases.

Os dois animais apresentaram um consumo de água (ml) significativamente superior na fase de abstinência quando comparado com as demais fases, G22 ($F(2,60) = 39,70$; $p \leq 0,001$) e G23 ($F(2,60) = 35,10$; $p \leq 0,001$). O animal G22 apresentou um consumo de água significativamente superior na fase de reapresentação em comparação com a de livre escolha.

Ambos não apresentaram diferenças significativas entre o consumo total de líquidos (ml) nas três fases experimentais.

As Figuras 21 e 22 no apêndice 9 apresentam os gráficos de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração dos animais G22 e G23, respectivamente.

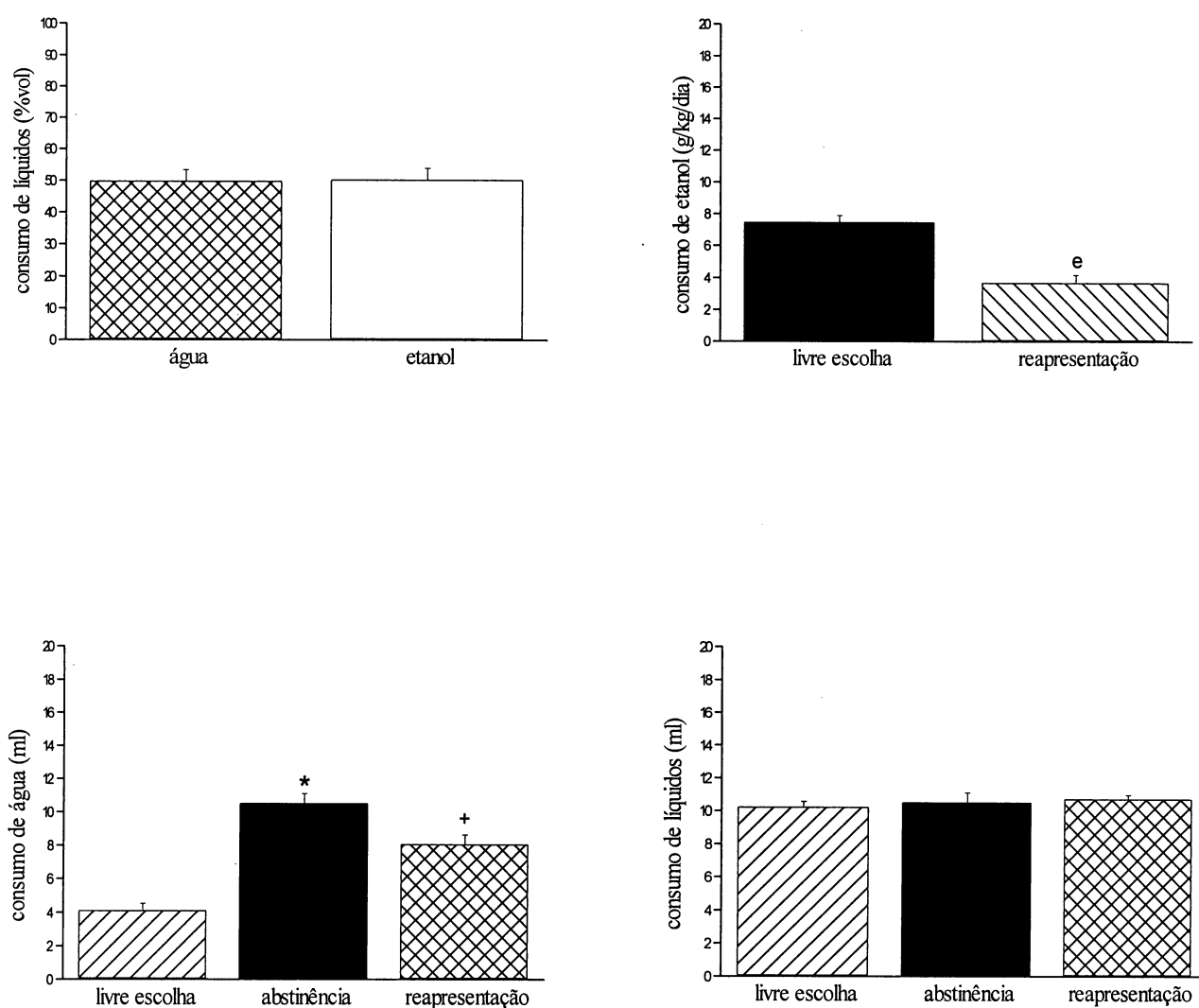


FIGURA 9.9 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G22 (padrão indefinido). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (e) Difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

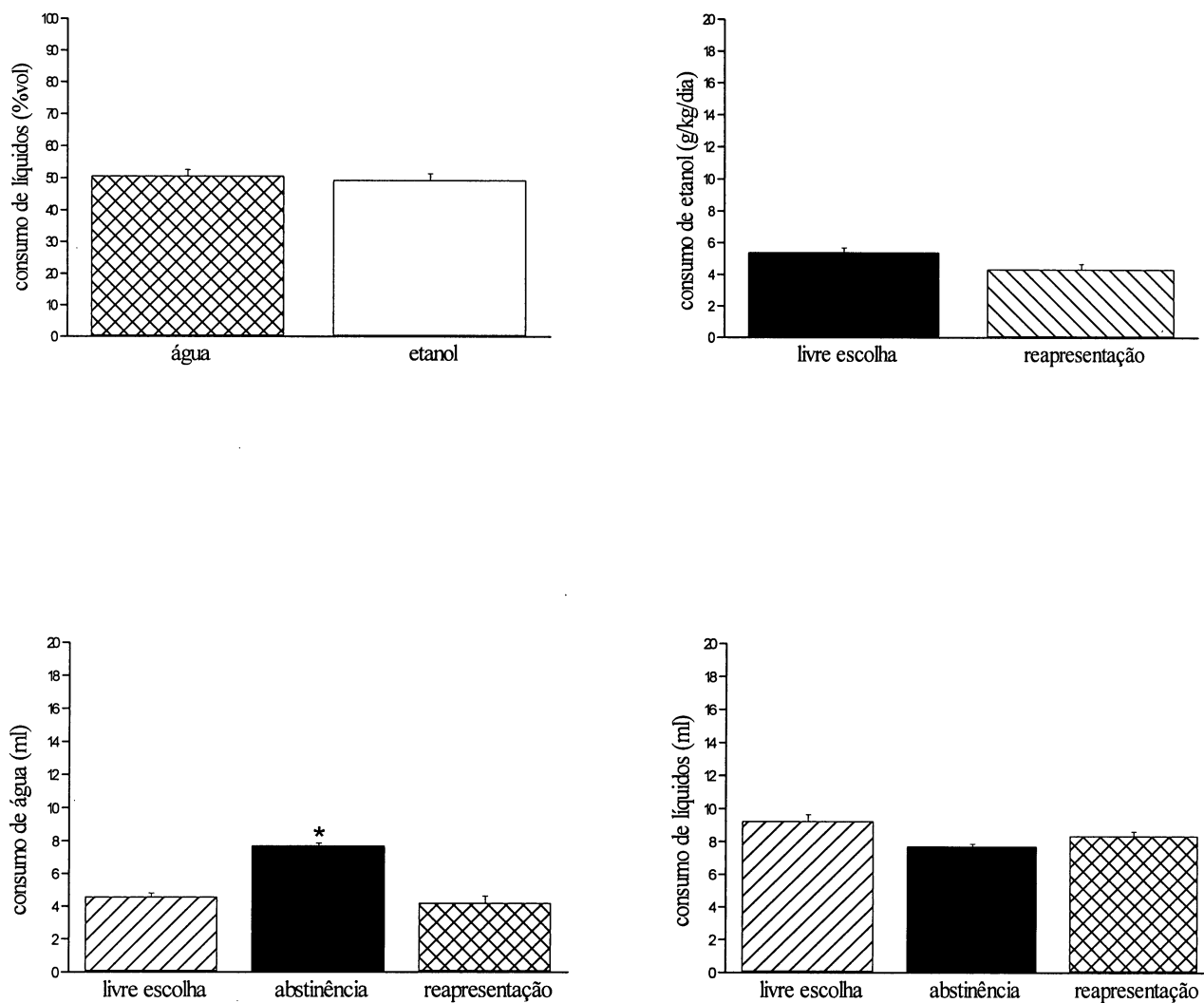


FIGURA 9.10 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G23 (padrão indefinido). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (*) Difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.3 Grupo sensibilizado (S)

5.2.4.3.1 Consumidor Leve

As Figuras 10.1 a 10.10 apresentam os gráficos do padrão de consumo individual de cada animal do grupo previamente classificado como S.

As Figuras 10.1 a 10.4 mostram os gráficos de consumo individual dos animais com padrão de consumidor leve (G6, G19, G21 e G26, respectivamente).

Os animais G6 ($t = 10,23$; $p \leq 0,001$), G19 ($t = 3,61$; $p \leq 0,001$), G21 ($t = 71,15$; $p \leq 0,001$) e G26 ($t = 36,74$; $p \leq 0,001$) apresentaram um consumo de água significativamente maior do que o consumo de etanol (%vol).

Com exceção do animal G26 ($t = 2,52$; $p \leq 0,05$) que apresentou um consumo significativamente maior de etanol (g/kg/dia) na fase de livre escolha quando comparada a fase de reapresentação, os demais animais não apresentaram diferença significativa no consumo de etanol entre estas fases.

O animal G6 ($F(2,60) = 13,68$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo de água (ml) significativamente inferior na fase de reapresentação quando comparado com as demais fases. Os animais G19 ($F(2,60) = 23,15$; $p \leq 0,001$) e G26 ($F(2,60) = 4,11$; $p \leq 0,05$) apresentaram um consumo de água significativamente superior na fase de abstinência em relação as demais fases. Além disso, o animal G19 apresentou um consumo superior na fase de reapresentação em comparação com a de livre escolha. O animal G21 ($F(2,60) = 13,40$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo significativamente inferior na fase de livre escolha em comparação com as demais fases.

O animal G6 ($F(2,60) = 9,55$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo total de líquidos (ml) significativamente superior na fase de livre escolha em comparação com as demais fases. O animal G26 ($F(2,60) = 4,82$; $p \leq 0,01$) apresentou um consumo significativamente superior na livre escolha em comparação com a fase de abstinência. O animal G19 ($F(2,60) = 7,35$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo significativamente inferior na fase de abstinência em comparação com as demais fases. O animal G21 não apresentou diferenças significativas entre as três fases experimentais.

As Figuras 23 a 26 no apêndice 10 apresentam os gráficos de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração dos animais G6, G19, G21 e G26, respectivamente.

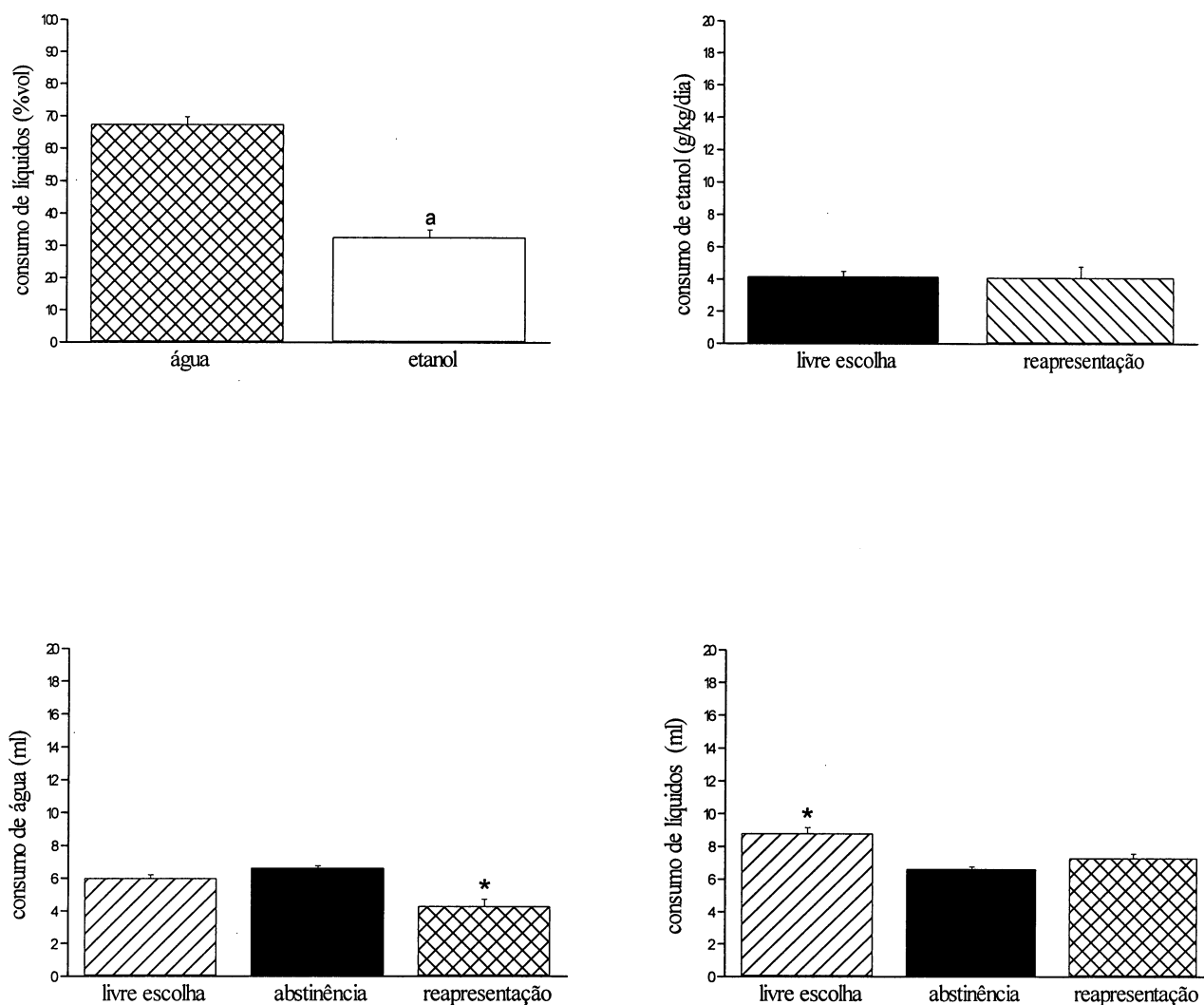


FIGURA 10.1 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G6 (consumidor leve). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

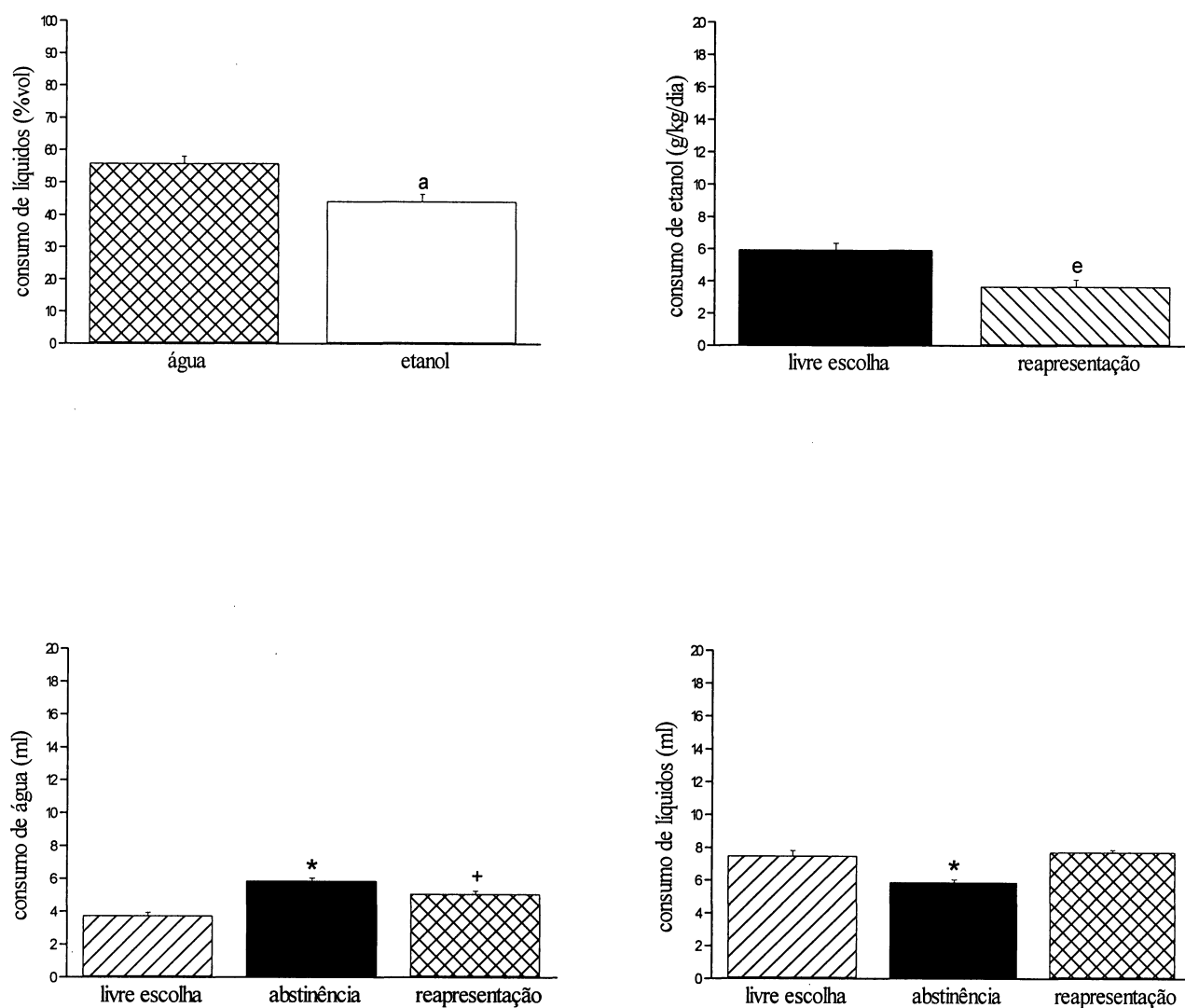


FIGURA 10.2 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G19 (consumidor leve). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

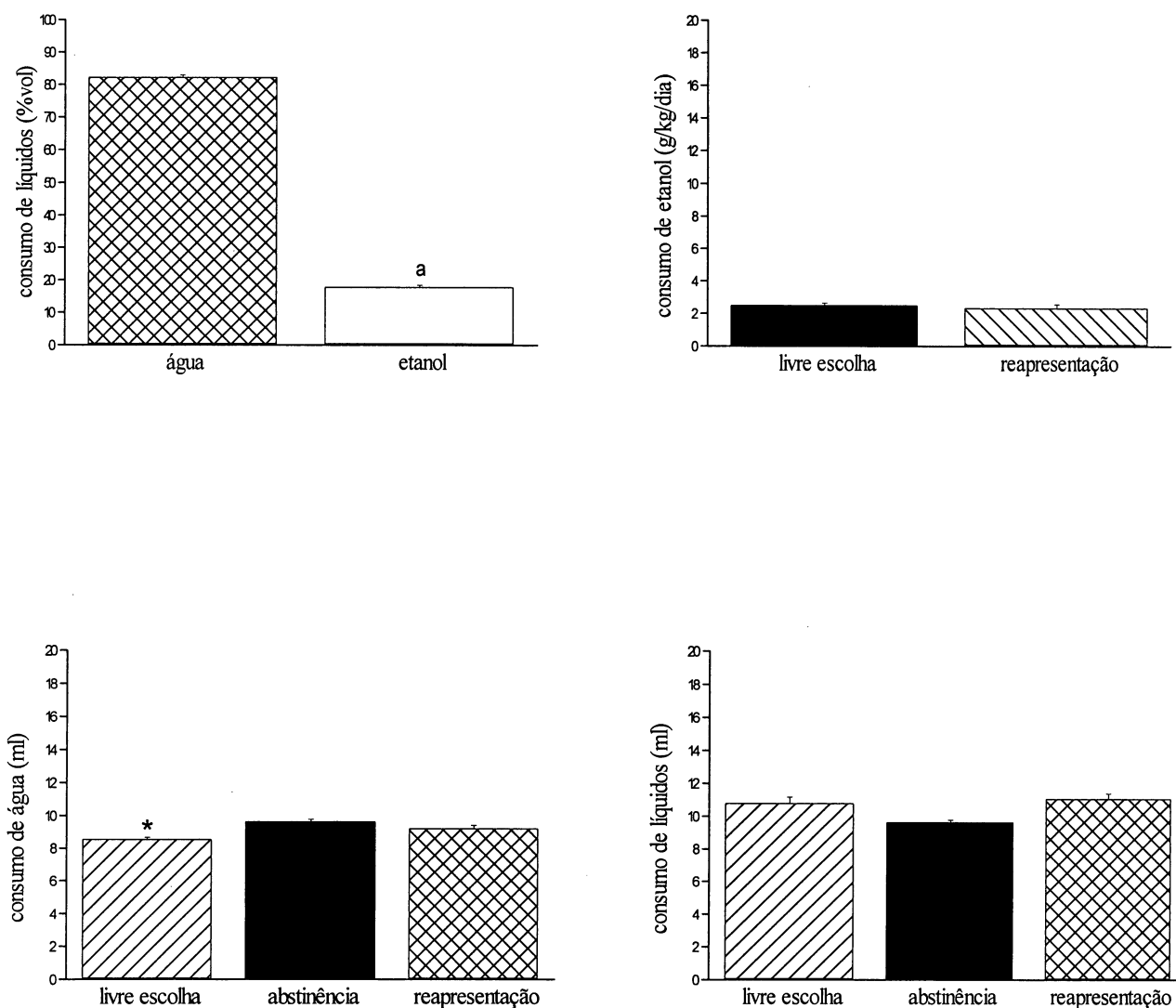


FIGURA 10.3 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G21 (consumidor leve). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (#) difere do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

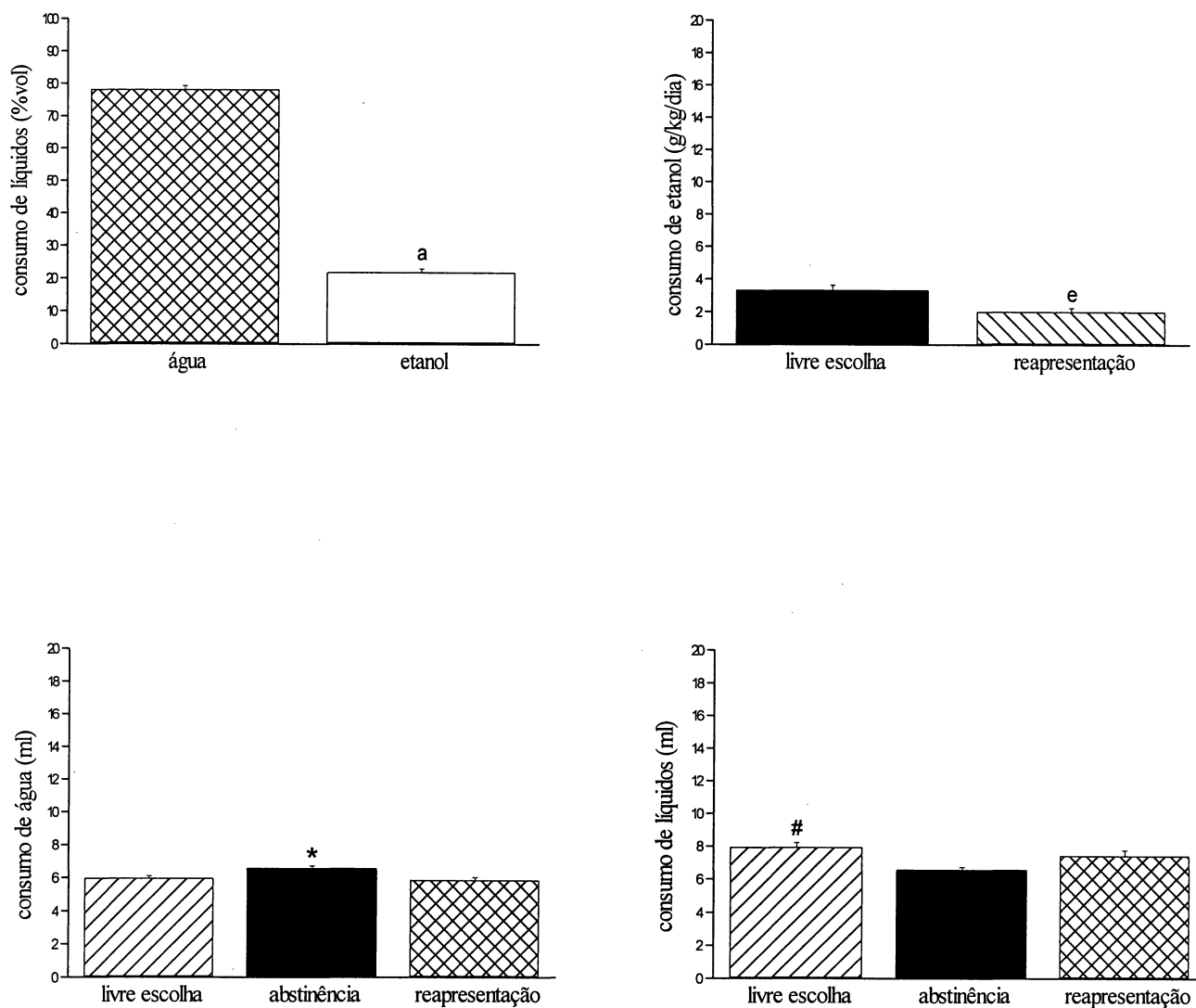


FIGURA 10.4 – **Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G26 (consumidor leve).** Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases, (#) difere da fase de abstinência. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.3.2 Consumidor Pesado

As Figuras 10.5 a 10.8 mostram os gráficos de consumo individual dos animais com padrão de consumidor pesado (G15, G16, G29 e G30, respectivamente).

Os animais G15 ($t = 2,63$; $p \leq 0,01$), G16 ($t = 17,75$; $p \leq 0,001$), G29 ($t = 13,30$; $p \leq 0,001$) e G30 ($t = 7,72$; $p \leq 0,001$) apresentaram um consumo de etanol significativamente maior do que o consumo de água (%vol).

Somente o animal G29 ($t = 2,49$; $p \leq 0,05$) apresentou um consumo significativamente inferior de etanol (g/kg/dia) na fase de reapresentação quando comparada a fase de livre escolha. Os animais G15, G16 e G30 não apresentaram diferença significativa entre o consumo de etanol nestas fases.

Todos os animais apresentaram um consumo de água (ml) significativamente superior na fase de abstinência em comparação com as demais fases, G15 ($F(2,60) = 33,25$; $p \leq 0,001$), G16 ($F(2,60) = 414,67$; $p \leq 0,001$), G29 ($F(2,60) = 208,96$; $p \leq 0,001$) e G30 ($F(2,60) = 109,14$; $p \leq 0,001$). O animal G15 apresentou um consumo de água significativamente superior na fase de livre escolha em comparação com a de reapresentação, enquanto os demais, ao contrário, apresentaram um consumo significativamente superior na fase de reapresentação em comparação com a de livre escolha.

O animal G15 ($F(2,60) = 6,26$; $p \leq 0,005$) apresentou um consumo total de líquidos (ml) significativamente inferior na fase de abstinência em comparação com as demais fases. Os animais G16, G29 e G30 não apresentaram diferenças significativas entre o consumo total nas três fases experimentais.

As Figuras 27 a 30 no apêndice 11 apresentam os gráficos de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração dos animais G15, G16, G29 e G30, respectivamente.

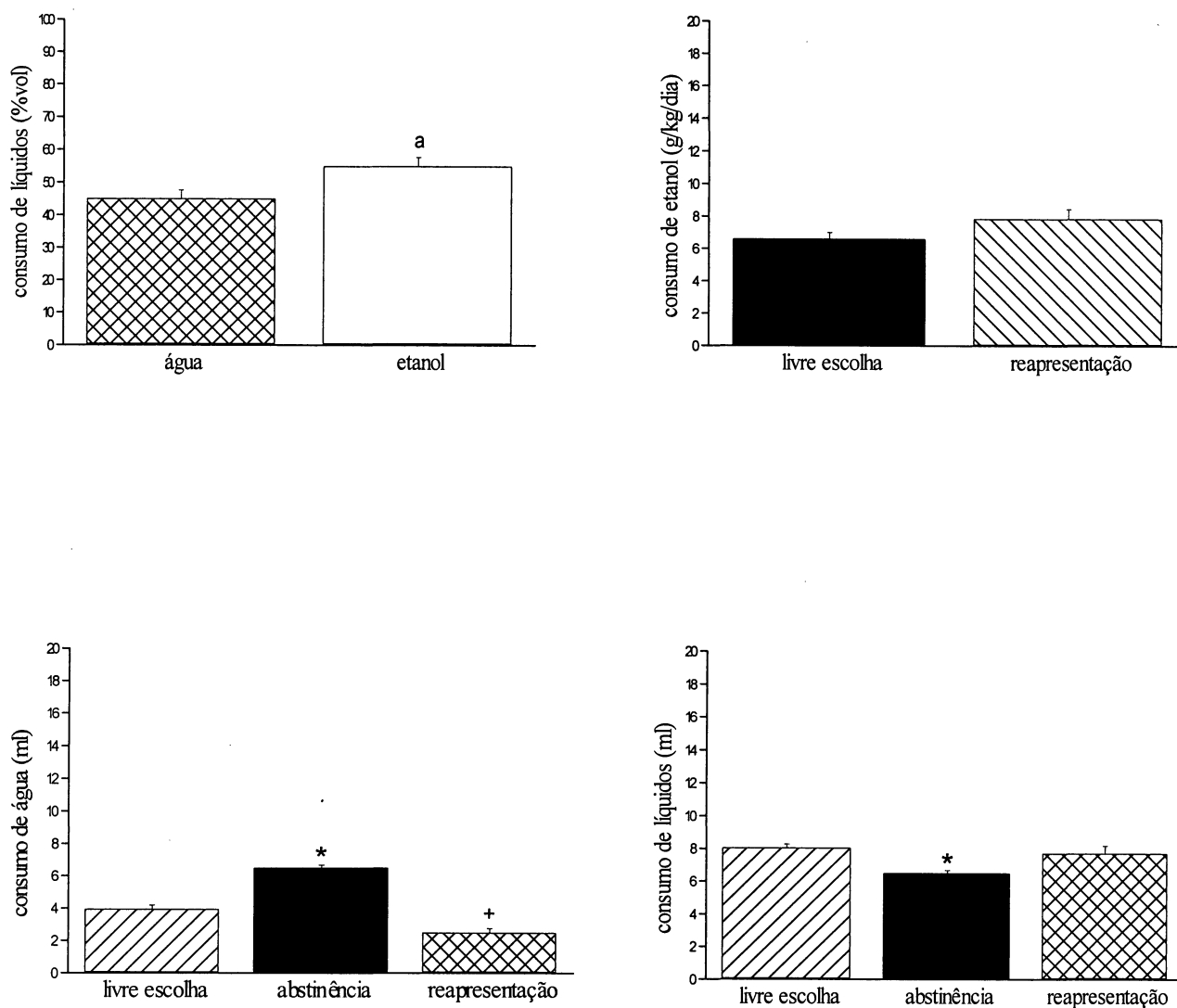


FIGURA 10.5 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G15 (consumidor pesado). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

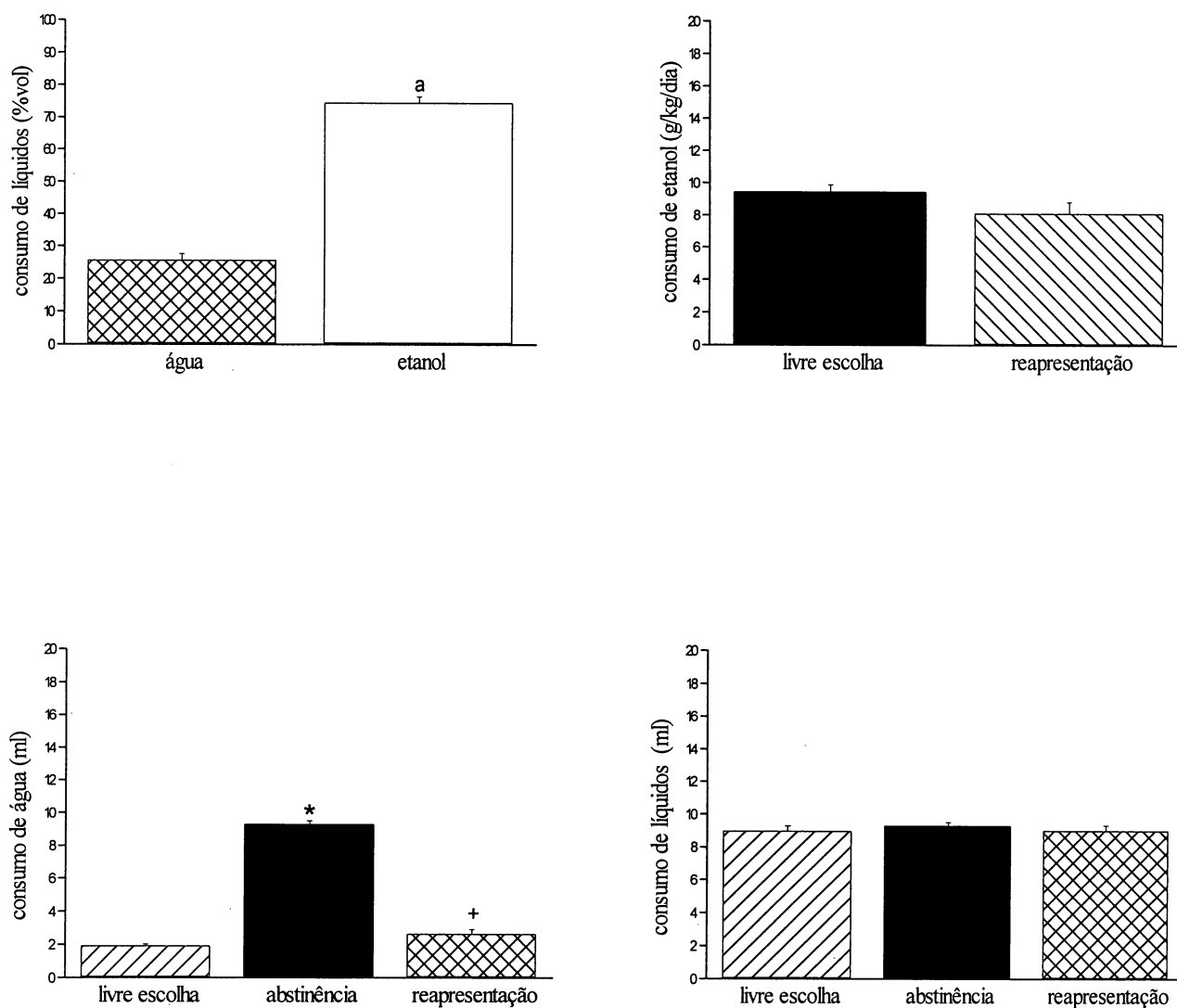


FIGURA 10.6 – **Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G16 (consumidor pesado).** Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre e escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

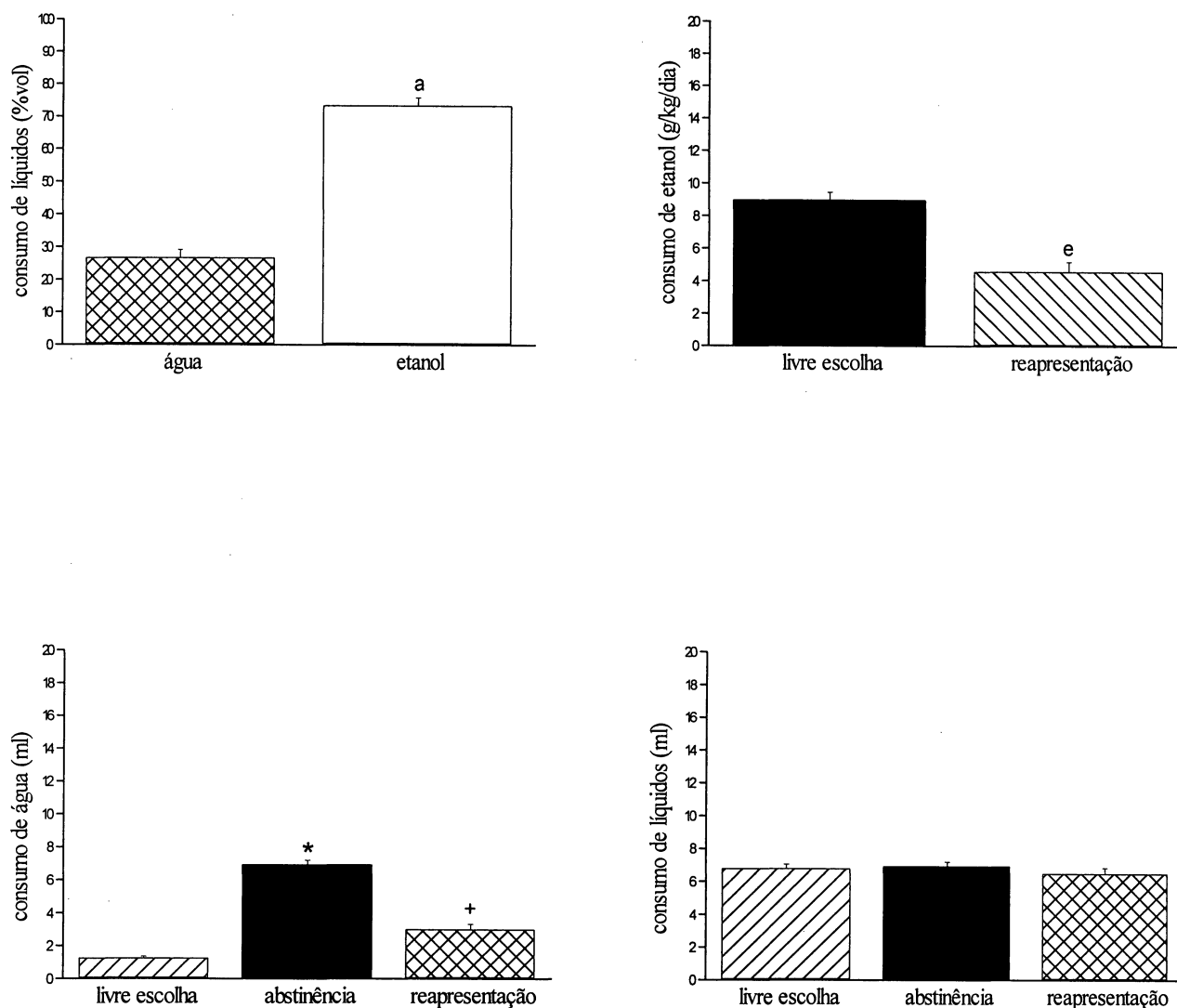


FIGURA 10.7 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G29 (consumidor pesado). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

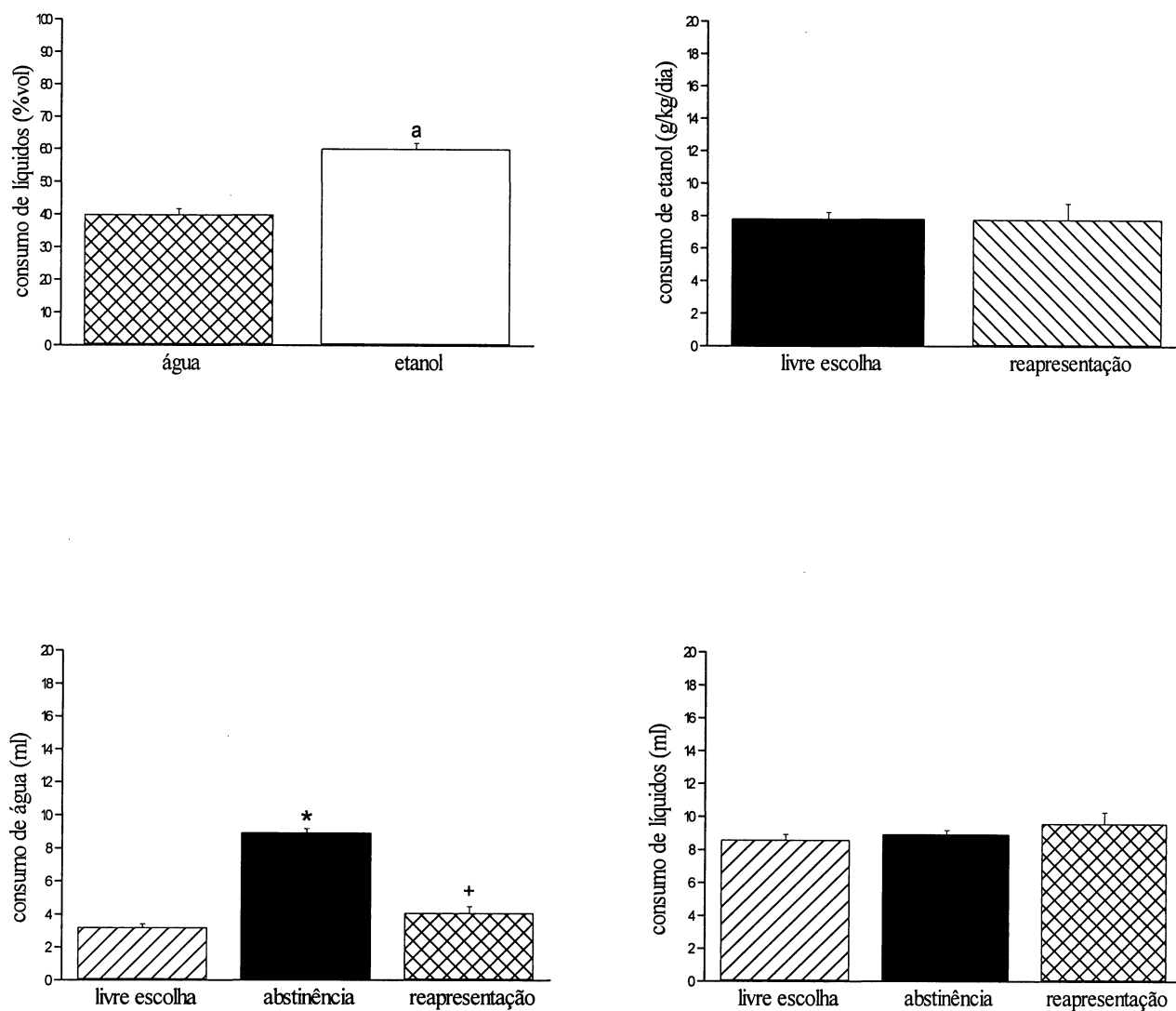


FIGURA 10.8 – **Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G30 (consumidor pesado).** Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (*) difere do consumo nas demais fases, (+) difere da fase de livre escolha. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.3.3 Consumidor com Recaída

A Figura 10.9 mostra os gráficos de consumo individual do animal com padrão de consumidor com recaída.

O animal G28 ($t = 27,70$; $p \leq 0,001$) apresentou um consumo significativamente superior de etanol com relação à água (%vol). Além disso, seu consumo de etanol (g/kg/dia) na fase de reapresentação foi significativamente superior ao consumo na fase de livre escolha ($t = 4,12$; $p \leq 0,001$).

Este animal apresentou um consumo de água (ml) significativamente superior na fase de abstinência em comparação com as demais fases ($F(2,60) = 138,78$; $p \leq 0,001$) e um consumo total de líquidos (ml) significativamente superior na fase de reapresentação em comparação com as demais fases ($F(2,60) = 8,89$; $p \leq 0,001$).

A Figura 31 no apêndice 12 apresenta o gráfico de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração do animal G28.

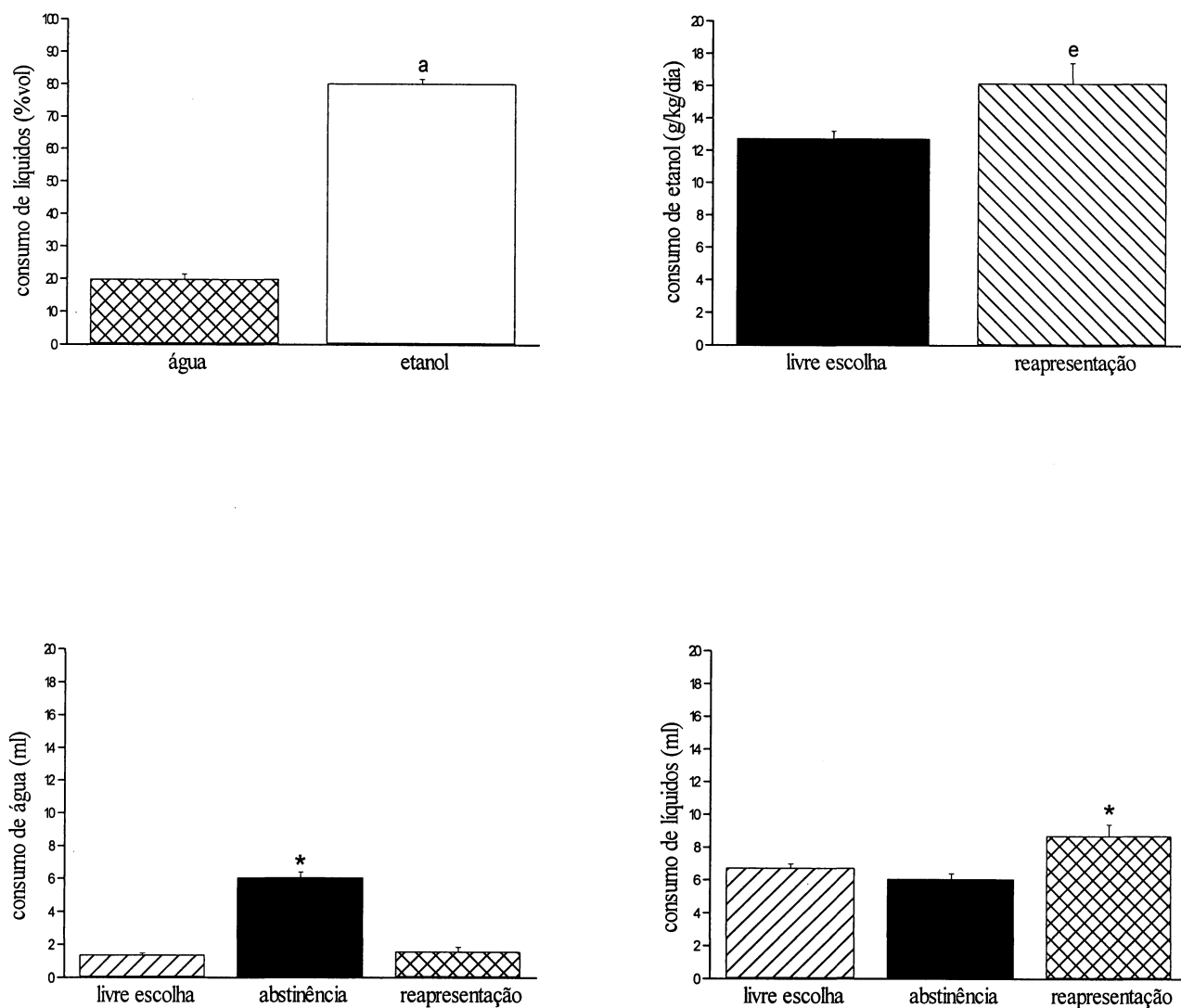


FIGURA 10.9 – Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G28 (consumidor com recaída). Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (a) Difere do consumo de água, (e) difere do consumo de etanol na fase de livre escolha, (*) difere do consumo nas demais. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

5.2.4.3.4 Consumidor Indefinido

A Figura 10.10 mostra os gráficos de consumo individual de um animal com padrão de consumo indefinido (G9).

O animal G9 não apresentou uma preferência de consumo entre os líquidos oferecidos (água ou etanol) (%vol). Da mesma forma, não houve diferença significativamente entre o consumo de etanol (g/kg/dia) nas fases de reapresentação e livre escolha.

Este animal apresentou um consumo de água (ml) significativamente superior na fase de abstinência em comparação com as demais fases ($F(2,60) = 5,15$; $p \leq 0,01$) e um consumo total de líquidos (ml) significativamente inferior na fase de abstinência quando comparado com as demais fases ($F(2,60) = 7,14$; $p \leq 0,005$).

A Figura 32 no apêndice 13 apresenta o gráfico de consumo individual de água, etanol 5% e etanol 10% ao longo das três fases do modelo de auto-administração do animal G9.

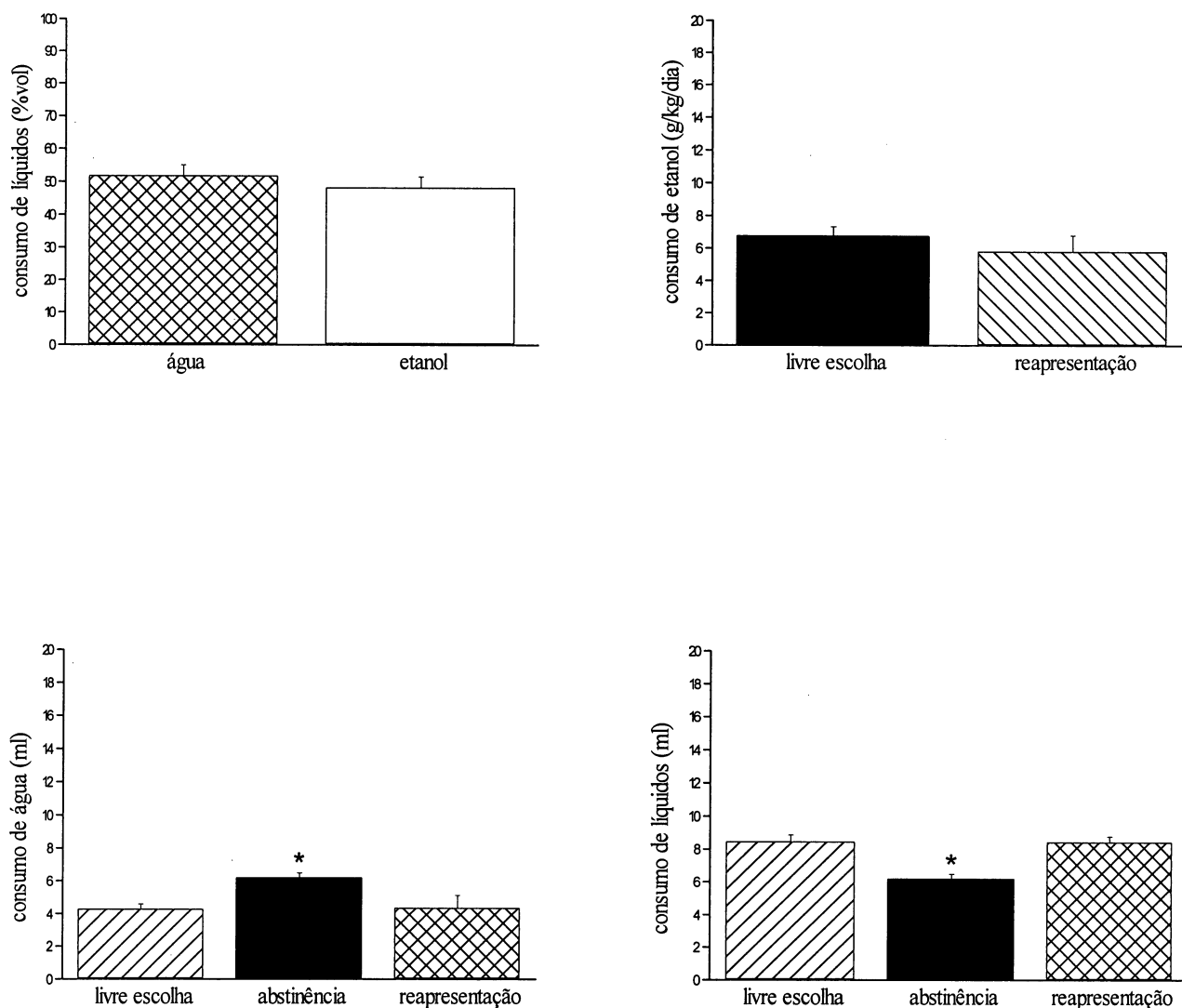


FIGURA 10.10 – **Padrão de consumo individual de etanol e água do animal G9 (padrão indefinido).** Acima à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água ou etanol (%vol) durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas). Acima à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo de etanol (g/kg/dia) durante as fases de livre escolha ou de reapresentação. Abaixo à esquerda: Média $\pm$ erro padrão do consumo de água (ml) nas três fases experimentais. Abaixo à direita: Média $\pm$ erro padrão do consumo total de líquidos (ml), sendo água + etanol nas fases de livre escolha e de reapresentação e somente água na fase de abstinência. Símbolos representam: (*) Difere Do consumo nas demais fases. Teste “t” de Student para amostras independentes ou dependentes; ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$; pelo menos).

A Tabela 9 apresenta a porcentagem de animais dos grupos previamente classificados de acordo com a ambulação apresentada no início do experimento (controle da sensibilização, não-sensibilizado e sensibilizado) reclassificados de acordo com os diferentes padrões de consumo (consumidor leve, consumidor pesado e consumidor com recaída).

Não foram observadas diferenças significativas entre o número de animais com cada padrão de consumo em cada um dos três grupos previamente classificados de acordo com a ambulação (CS, NS e S).

Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas quando comparados o número de animais com cada padrão de consumo entre os três grupos previamente classificados de acordo com a ambulação.

TABELA 9 – DISTRIBUIÇÃO DE ACORDO COMO O PADRÃO DE CONSUMO INDIVIDUAL

	PADRÃO DE CONSUMO		
	LEVE (n=15)	PESADO (n=8)	RECAÍDA (n=4)
Controle da sensibilização (n=10)	6	2	2
Não-sensibilizado (n=8)	5	2	1
Sensibilizado (n=9)	4	4	1

NOTA: Número de animais de acordo com o padrão individual de consumo. Fischer ($p>0,05$).

5.3 Experimento 3: Testes comportamentais

5.3.1 Avaliação da ambulação no início e ao término do modelo de auto-administração e o consumo de etanol durante o modelo

As Figuras 11 a 15 apresentam as correlações da atividade locomotora avaliada no início e no término do modelo com o consumo de etanol em g/kg/dia ou com a preferência de etanol expressa em porcentagem do volume de etanol durante todo o modelo de auto-administração (fase de livre escolha e fase de reapresentação juntas) dos três grupos experimentais submetidos à livre escolha (CS, NS e S).

Não foram observadas correlações significativas quando os três grupos foram analisados em conjunto (Figura 11).

O grupo CS apresentou correlação negativa significativa entre a ambulação no teste realizado ao término do modelo de auto-administração e o consumo (g/kg/dia) e a preferência (%vol) de etanol ($p \leq 0,05$, para ambos). Não foi observada correlação significativa com o teste realizado no início do modelo (Figura 12).

O grupo NS apresentou correlação positiva significativa entre a ambulação no início do modelo de auto-administração e o consumo (g/kg/dia) e a preferência (%vol) de etanol ($p \leq 0,005$, para ambos). Não houve correlação com o teste realizado ao término do modelo (Figura 13).

O grupo S não apresentou correlação significativa entre os parâmetros analisados (Figura 14).

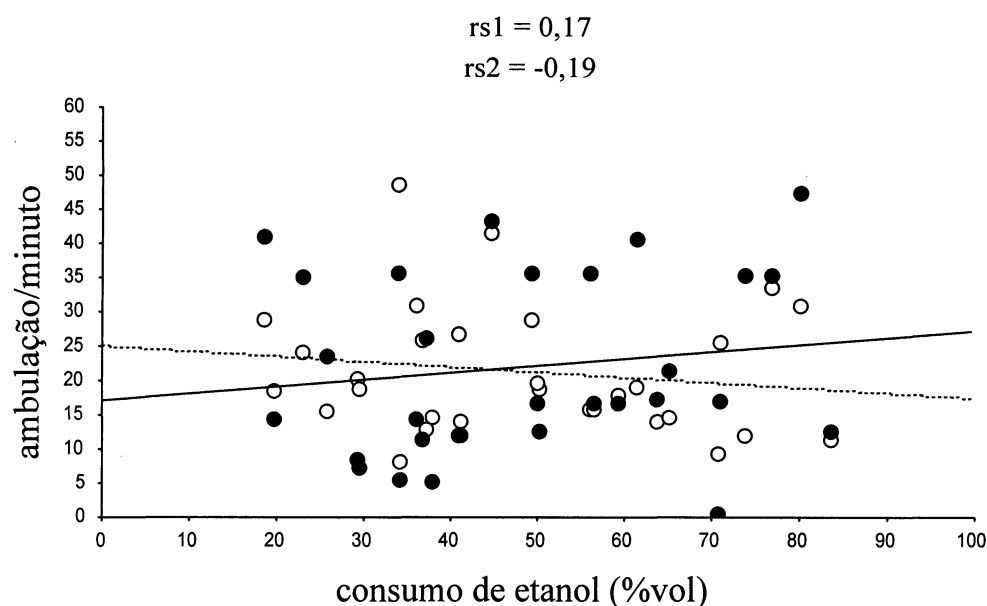
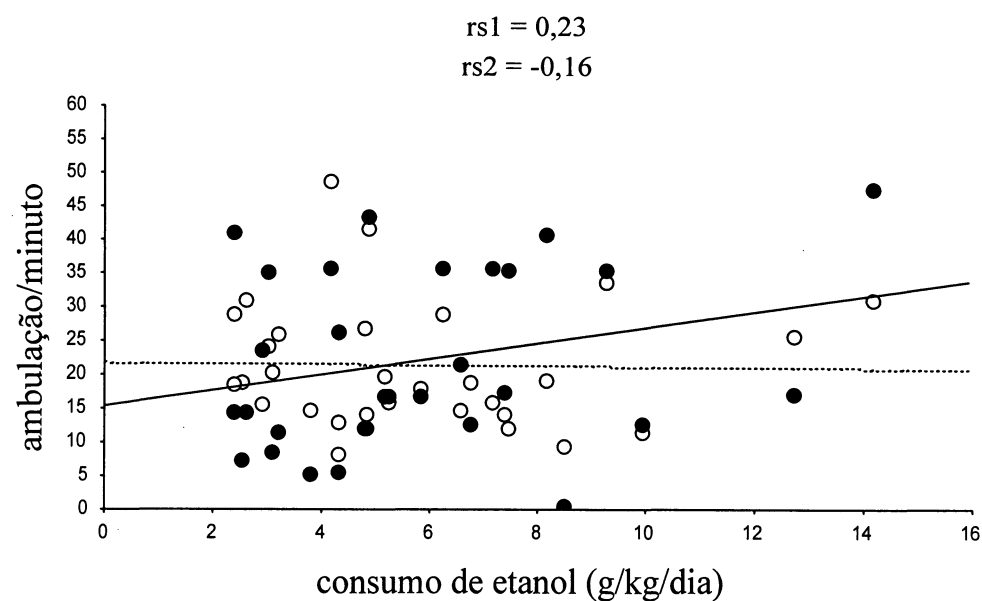


FIGURA 11 – Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo dos grupos com livre escolha. Valores individuais da ambulação apresentada no experimento 1 - desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol (símbolos cheios) e no experimento 3 - teste realizado no final do modelo de auto-administração de etanol (símbolos vazios), para todos os grupos com livre escolha: (CS) controle da sensibilização, (NS) não-sensibilizado e (S) sensibilizado. Abreviações significam: (rs1) correlação entre a ambulação no experimento 1 e o consumo de etanol e (rs2) correlação entre a ambulação no experimento 3 e o consumo de etanol. Acima: correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e o consumo de etanol (g/kg/dia). Abaixo: correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e a preferência pelo etanol (%vol de etanol). Correlação de Spearman ($p > 0,05$).

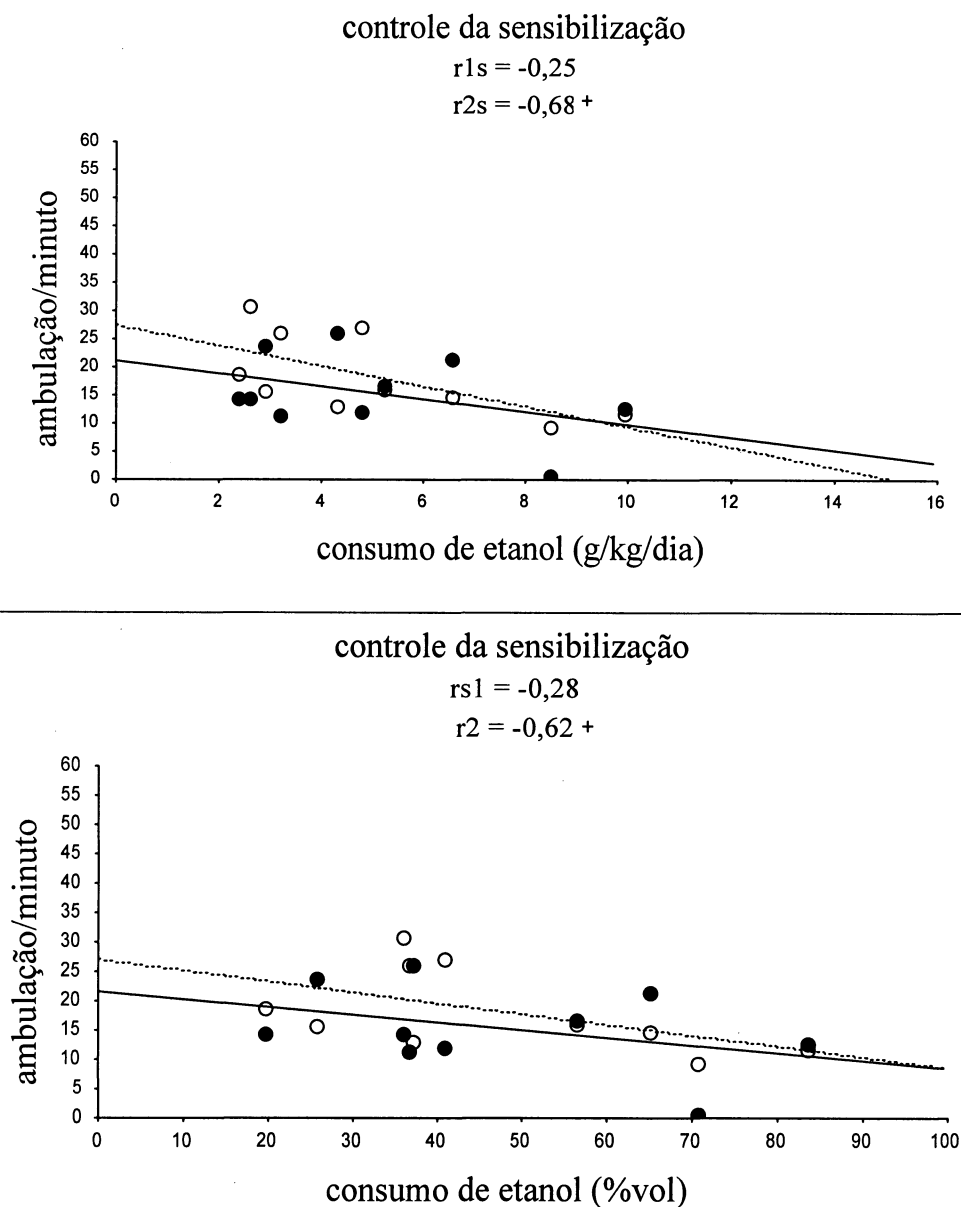


FIGURA 12 - Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo do grupo controle da sensibilização. Valores individuais da ambulação apresentada no experimento 1 - desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol (símbolos cheios) e no experimento 3 - teste realizado no final do modelo de auto-administração de etanol (símbolos vazios), para o grupo controle da sensibilização. Abreviações significam: ($rs1$) correlação entre a ambulação no experimento 1 e o consumo de etanol e ($rs2$) correlação entre a ambulação no experimento 3 e o consumo de etanol. Acima: correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e o consumo de etanol (g/kg/dia). Abaixo: correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e a preferência pelo etanol (%vol de etanol). Símbolos representam: (+) correlação negativa significativa da ambulação apresentada no teste realizado ao término do modelo de auto-administração de etanol com o consumo (g/kg/dia) ou com a preferência (%vol) de etanol. Correlação de Spearman ($p \leq 0,05$).

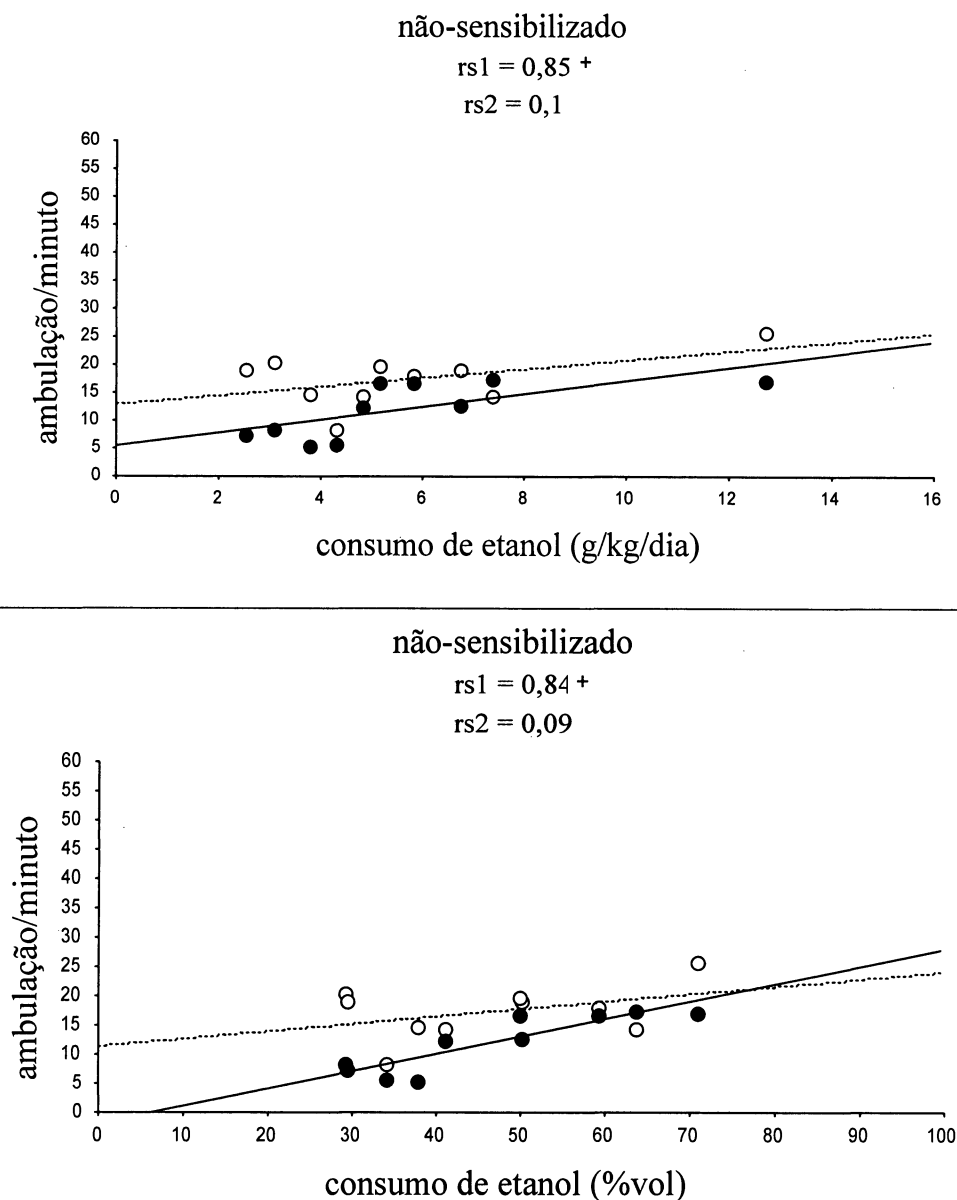


FIGURA 13 - Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo do grupo não-sensibilizado. Valores individuais da ambulação apresentada no experimento 1 - desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol (símbolos cheios) e no experimento 3 - teste realizado no final do modelo de auto-administração de etanol (símbolos vazios), para o grupo não-sensibilizado. Abreviações significam: (rs1) correlação entre a ambulação no experimento 1 e o consumo de etanol e (rs2) correlação entre a ambulação no experimento 3 e o consumo de etanol. Acima: correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e o consumo de etanol (g/kg/dia). Abaixo: correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e a preferência pelo etanol (%vol de etanol). Símbolos representam: (+) correlação positiva significativa entre a ambulação apresentada no teste realizado no início do modelo de auto-administração de etanol e o consumo (g/kg/dia) e a preferência (%vol) de etanol. Correlação de Spearman ($p \leq 0,005$).

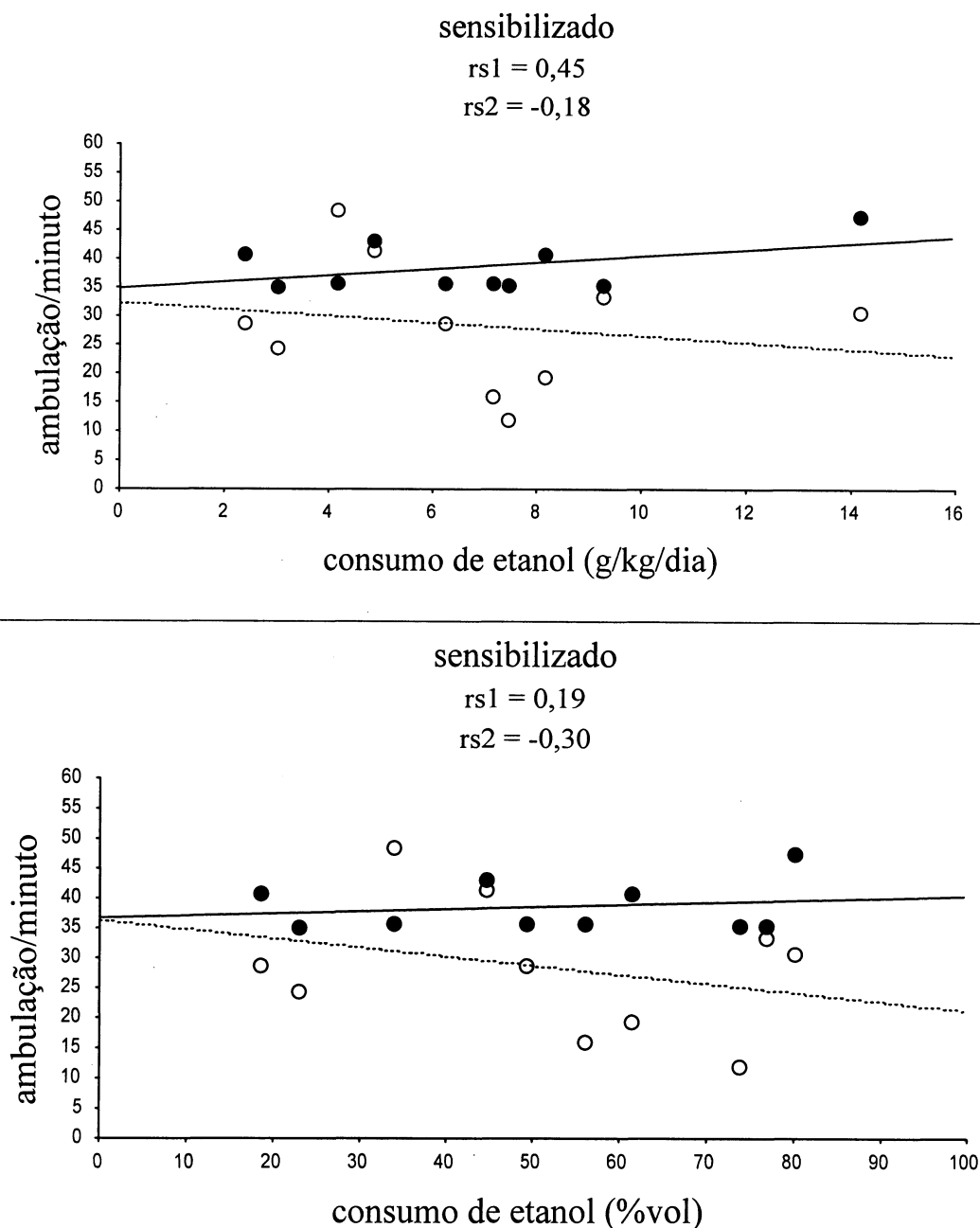


FIGURA 14 - Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo do grupo sensibilizado. Valores individuais da ambulação apresentada no experimento 1 - desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol (símbolos cheios) e no experimento 3 - teste realizado no final do modelo de auto-administração de etanol (símbolos vazios), para o grupo sensibilizado. Abreviações significam: (rs1) correlação entre a ambulação no experimento 1 e o consumo de etanol e (rs2) correlação entre a ambulação no experimento 3 e o consumo de etanol. Acima: correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e o consumo de etanol (g/kg/dia). Abaixo: correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e a preferência pelo etanol (%vol de etanol). Correlação de Spearman ($p > 0,05$).

A Figura 15 mostra as correlações entre o consumo de água do grupo controle do isolamento nas fases correspondentes a de livre escolha e de reapresentação para os animais submetidos ao modelo de auto-administração e a atividade locomotora no início e ao término do modelo.

Não foram observadas correlações significativas entre os parâmetros analisados para este grupo.

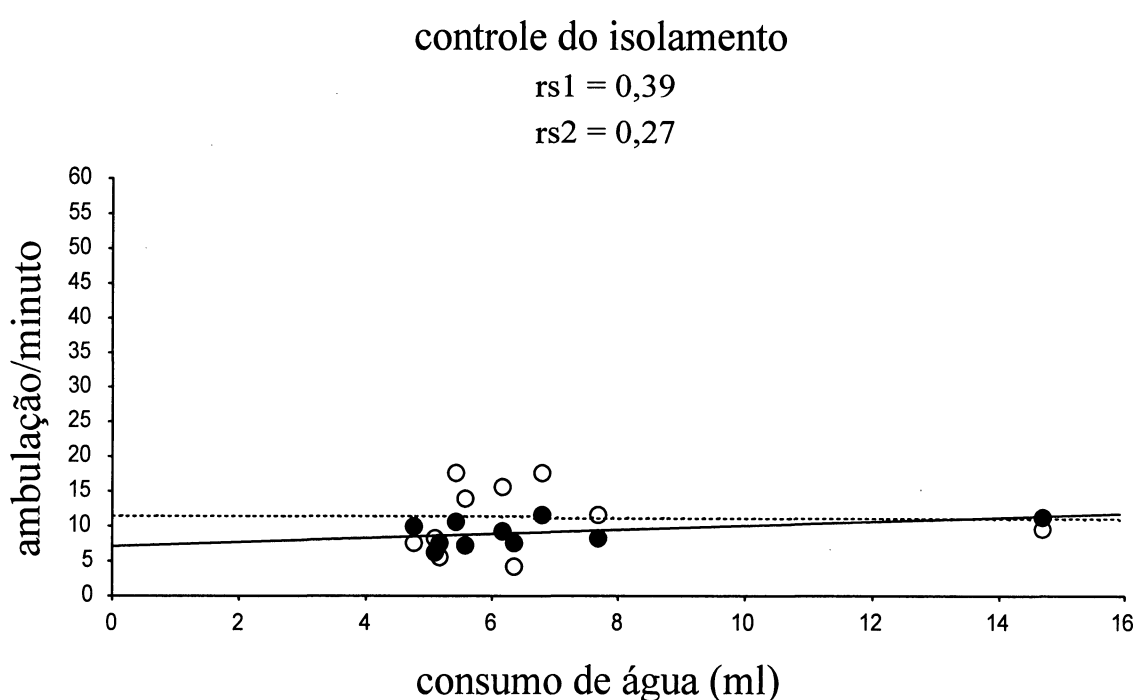


FIGURA 15 - Ambulação na caixa de movimentação espontânea e consumo do grupo controle do isolamento. Valores individuais da ambulação apresentada no experimento 1 - desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol (símbolos cheios) e no experimento 3 - teste realizado no final do modelo de auto-administração de etanol (símbolos vazios), para o grupo controle do isolamento. Abreviações significam: (rs1) correlação entre a ambulação no experimento 1 e o consumo de etanol e (rs2) correlação entre a ambulação no experimento 3 e o consumo de etanol. Correlação entre a ambulação nos experimentos 1 e 3 e o consumo de água (ml). Correlação de Spearman ($p > 0,05$).

5.3.2 Avaliação comportamental durante a fase de abstinência do modelo de auto-administração de etanol (48 horas após a retirada das soluções de etanol)

A tabela 10 mostra a avaliação comportamental realizada na fase de abstinência (48 horas após a retirada das soluções de etanol). Os quatro grupos experimentais foram avaliados na caixa de movimentação espontânea, campo aberto e labirinto em cruz elevado. A comparação entre os dois grupos controles (CI e CS) não revelou diferença significativa para nenhuma das variáveis quantificadas, assim as análises de Kruskal-Wallis foram realizadas entre os três grupos com livre escolha, CS, NS e S.

Através de ANOVA de Kruskal-Wallis ($H(2,30) = 7,28$; $p \leq 0,05$) foi observada diferença significativa na ambulação no campo aberto entre os grupos experimentais. O grupo S apresentou uma ambulação significativamente maior do que o grupo NS ($p \leq 0,01$). O grupo CS apresentou uma ambulação inferior quando comparada com o grupo S, porém sem significância estatística ($p \leq 0,06$).

Além disso, foi observada diferença significativa no número de entradas nos braços abertos do labirinto em cruz elevado entre os grupos experimentais ($H(2,30) = 7,09$; $p \leq 0,05$). O grupo S apresentou um maior número de entradas nos braços abertos quando comparado ao grupo NS ($p \leq 0,005$).

Não foram observadas outras diferenças significativas entre os grupos nos demais parâmetros analisados. Caixa de movimentação espontânea: ambulação ($H(2,30) = 3,30$; $p = 0,19$) e *rearing* ($H(2,30) = 0,12$; $p = 0,94$). Campo aberto: *rearing* ($H(2,30) = 4,55$; $p = 0,10$). Labirinto em Cruz Elevado: entradas no braço fechado ($H(2,30) = 0,76$; $p = 0,68$), % de tempo no braço aberto ($H(2,30) = 0,76$; $p = 0,86$) e tempo no centro ($H(2,30) = 3,33$; $p = 0,19$).

TABELA 10 – AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL APÓS 48 HORAS DA RETIRADA DO ETANOL PARA OS QUATRO GRUPOS EXPERIMENTAIS

APARELHO	VARIÁVEIS	GRUPOS			
		CI (n=10)	CS (n=10)	NS (n=10)	S (n=10)
Ambulação / atividade exploratória					
Caixa de Movimentação Espontânea					
	Ambulação	25,0 (17,0 - 32,0)	28,5 (22,0 - 32,0)	18,0 (15,0 - 22,0)	38,5 (14,0 - 46,0)
	Rearing	4,0 (0,0 - 7,0)	4,0 (3,0 - 4,0)	3,0 (1,0 - 12,0)	3,0 (2,0 - 14,0)
Campo Aberto					
	Ambulação	63,5 (50,0 - 95,0)	76,0 (48,0 - 83,0)	59,0 (38,0 - 79,0)	93,0 (79,0 - 105,0) *
	Rearing	7,5 (3,0 - 11,0)	7,5 (2,0 - 16,0)	4,0 (1,0 - 15,0)	18,0 (11,0 - 26,0)
Labirinto em Cruz Elevado					
	Total de Entradas	12,5 (11,0 - 14,0)	12,5 (6,0 - 16,0)	12,0 (9,0 - 14,0)	14,5 (12,0 - 17,0)
Resposta ao medo					
Labirinto em Cruz Elevado					
	Entradas no braço aberto	7,0 (5,0 - 9,0)	7,5 (6,0 - 10,0)	6,0 (3,0 - 7,0)	9,0 (8,0 - 11,0) *
	Entradas no braço fechado	4,5 (4,0 - 7,0)	4,5 (3,0 - 7,0)	6,0 (3,0 - 7,0)	4,0 (3,0 - 6,0)
	% Tempo no braço aberto	61,4 (44,2 - 71,4)	61,3 (47,2 - 75,8)	49,8 (33,5 - 61,1)	73,1 (48,0 - 84,9)
	Tempo no centro	31,0 (27,0 - 35,0)	31,0 (19,0 - 36,0)	33,5 (28,0 - 36,0)	28,5 (22,0 - 41,0)

NOTA: Mediana e interquartis das variáveis obtidas no teste comportamental realizado após 48 horas da retirada do etanol (fase de abstinência) para os quatro grupos experimentais: (CI) controle do isolamento, (CS) controle da sensibilização, (NS) não-sensibilizado e (S) sensibilizado. Símbolos representam: (*) difere do grupo NS. Kruskal-Wallis, Teste “U” de Mann-Whitney ($p \leq 0,05$, pelo menos).

5.3.3 Avaliação comportamental ao término do modelo de auto-administração de etanol (24 horas após a retirada das soluções de etanol)

A tabela 11 mostra a avaliação comportamental realizada ao término do modelo de auto-administração (24 horas após a retirada das soluções de etanol). Os quatro grupos experimentais foram avaliados na caixa de movimentação espontânea, campo aberto e labirinto em cruz elevado. Os animais dos grupos CS, NS e S receberam uma injeção i.p. de etanol (2g/kg) 10 minutos antes da realização dos testes e o grupo CI recebeu salina.

Através de ANOVA de Kruskal-Wallis ($H(3,40) = 16,24$; $p \leq 0,001$) foi observada diferença significativa na ambulação na caixa de movimentação espontânea entre os grupos experimentais. O grupo S apresentou uma ambulação significativamente maior do que os demais grupos, CI ($p \leq 0,001$), CS ($p \leq 0,05$) e NS ($p \leq 0,05$). O grupo CI apresentou uma ambulação significativamente inferior também quando comparado aos grupos CS ($p \leq 0,05$) e NS ($p \leq 0,01$).

Além disso, foi observada diferença significativa na ambulação no campo aberto entre os grupos experimentais ($H(3,40) = 8,48$; $p \leq 0,05$). O grupo S apresentou uma ambulação significativamente superior quando comparada aos grupos CI ($p \leq 0,005$) e CS ($p \leq 0,05$). Apesar de não ter sido observada diferença estatística significante, o grupo NS ($p \leq 0,07$) também apresentou uma ambulação inferior quando comparado com o grupo S.

Não foram observadas outras diferenças significativas entre os grupos nos demais parâmetros analisados. Caixa de movimentação espontânea: *rearing* ($H(3,40) = 2,56$; $p = 0,47$). Campo aberto: *rearing* ($H(3,40) = 4,74$; $p = 0,19$). Labirinto em Cruz Elevado: entradas no braço aberto ($H(3,40) = 0,05$; $p = 1,00$), entradas no braço fechado ($H(3,40) = 6,40$; $p = 0,09$), % de tempo no braço aberto ($H(3,40) = 1,43$; $p = 0,70$) e tempo no centro ($H(3,40) = 5,54$; $p = 0,09$).

TABELA 11 – AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL APÓS 24 HORAS DO TÉRMINO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS QUATRO GRUPOS EXPERIMENTAIS.

APARELHO	VARIÁVEIS	GRUPOS			
		CI (n=10)	CS (n=10)	NS (n=10)	S (n=10)
Ambulação / atividade exploratória					
Caixa de Movimentação Espontânea					
	Ambulação	32,0 (23,0 - 47,0)	47,5 (39,0 - 78,0) *	55,5 (43,0 - 59,0) *	87,0 (58,0 - 101,0) #
	Rearing	4,5 (2,0 - 9,0)	2,0 (0,0 - 6,0)	5,0 (1,0 - 7,0)	6,0 (1,0 - 19,0)
Campo Aberto					
	Ambulação	75,0 (44,0 - 101,0)	100,5 (50,0 - 113,0)	99,5 (30,0 - 130,0)	144,0 (107,0 - 192,0) *
	Rearing	7,5 (3,0 - 15,0)	0,5 (0,0 - 1,0)	2,0 (0,0 - 10,0)	2,5 (0,0 - 8,0)
Labirinto em Cruz Elevado					
	Total de Entradas	12,0 (9,0 - 17,0)	14,0 (8,0 - 26,0)	14,5 (13,0 - 23,0)	22,0 (17,0 - 35,0)
Resposta ao medo					
Labirinto em Cruz Elevado					
	Entradas no braço aberto	8,0 (5,0 - 10,0)	7,5 (4,0 - 12,0)	7,0 (6,0 - 9,0)	7,0 (4,0 - 11,0)
	Entradas no braço fechado	4,5 (4,0 - 6,0)	6,5 (4,0 - 10,0)	4,5 (3,0 - 12,0)	13,5 (11,0 - 20,0)
	% Tempo no braço aberto	65,6 (57,9 - 80,0)	61,1 (47,7 - 91,0)	82,4 (37,6 - 88,8)	58,7 (32,4 - 66,1)
	Tempo no centro	17,0 (14,0 - 21,0)	5,5 (3,0 - 11,0)	11,0 (9,0 - 20,0)	17,5 (10,0 - 27,0)

NOTA: Mediana e interquartis das variáveis obtidas no teste comportamental realizado ao término do modelo de auto-administração para os quatro grupos experimentais: (CI) controle do isolamento, (CS) controle da sensibilização, (NS) não-sensibilizado e (S) sensibilizado. Os grupos CS, NS e S receberam etanol 2g/kg i.p. 10 minutos antes do teste e o grupo CI recebeu salina. Símbolos representam: (#) difere dos demais grupos, (*) difere do grupo CI. Kruskal-Wallis, Teste “U” de Mann-Whitney ($p \leq 0,05$, pelo menos).

5.3.4 Comparação entre a ambulação apresentada no início e ao término do modelo de auto-administração de etanol

A Figura 15 apresenta a atividade locomotora avaliada no início e ao término do modelo de auto-administração de etanol para cada grupo experimental.

O grupo NS apresentou um aumento significativo na ambulação no teste realizado ao término do modelo de auto-administração quando comparado com o teste realizado no início do tratamento ($Z = 2,29$; $p \leq 0,05$).

O grupo S, ao contrário, apresentou uma diminuição significativa na ambulação no teste realizado ao término do modelo de auto-administração quando comparado com o teste realizado no início do tratamento ($Z = 2,19$; $p \leq 0,05$).

Os grupos CI e CS não apresentaram alterações significativas na ambulação.

As comparações entre os grupos experimentais estão apresentadas na Figura 1 (início do modelo) e Tabela 11 (término do modelo).

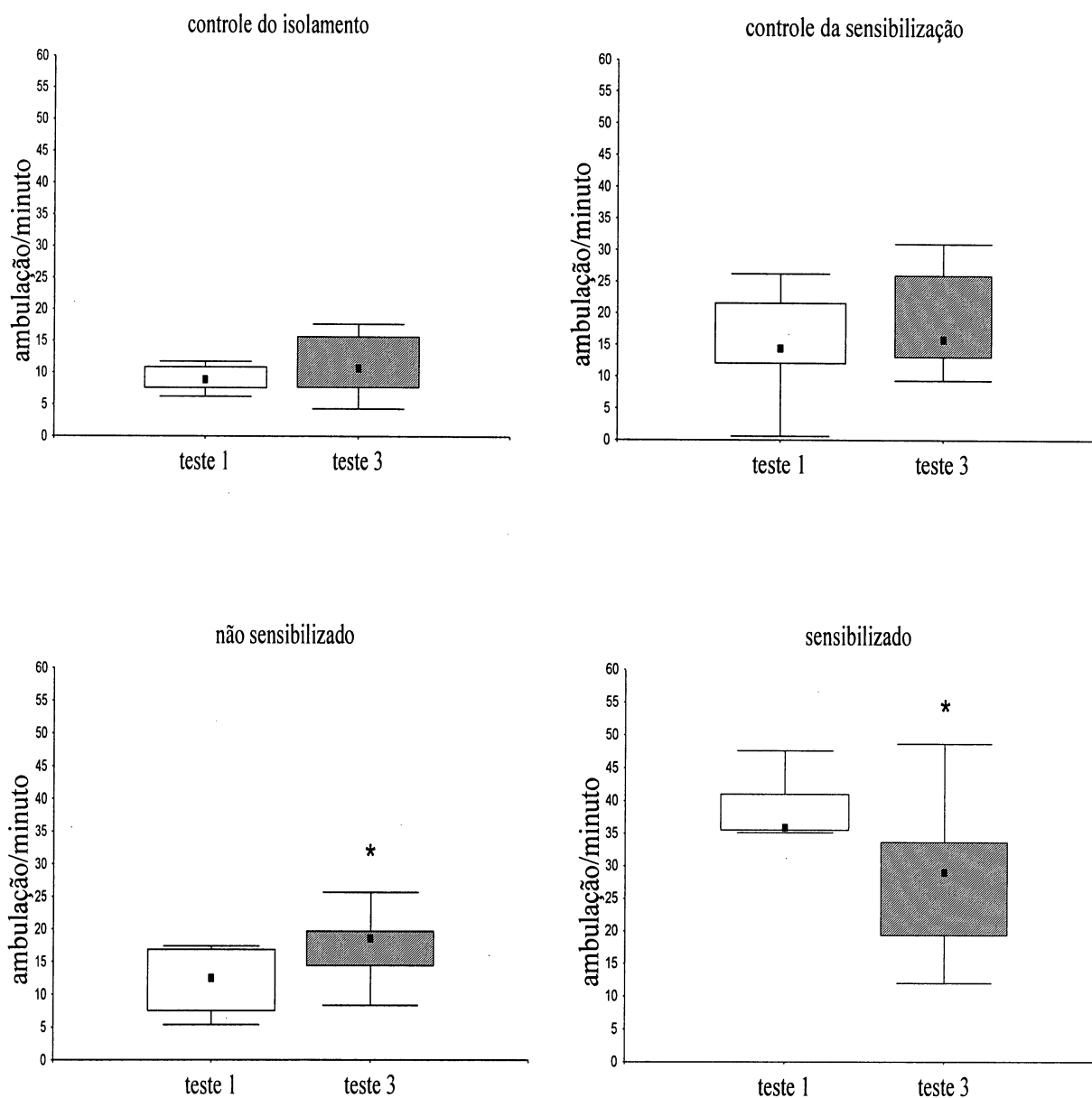


FIGURA 16 – Ambulação na Caixa de Movimentação Espontânea no início e ao término do modelo de auto-administração. Mediana e interquartis da ambulação apresentada na caixa de movimentação espontânea nos testes realizados no início do modelo de auto-administração (teste 1) e ao término do modelo (teste 3) para os quatro grupos experimentais. O grupo controle isolamento (superior à esquerda) foi testado nas duas ocasiões após a administração de salina e tinha apenas água à disposição em sua gaiola-casa. Os demais grupos tinham livre escolha entre etanol e água e foram testados após a administração de 2g/kg I.P. de etanol. Símbolo representa: (*) difere da ambulação apresentada no teste 1. Teste de Wilcoxon ($p \leq 0,05$, pelo menos).

DISCUSSÃO

6.0 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que o pré-tratamento com etanol, capaz de induzir sensibilização comportamental ao seu efeito estimulante, não tornou os animais mais susceptíveis ao desenvolvimento de um padrão de consumo com recaída ao contrário do que seria esperado pela Teoria de incentivo-sensibilização e que foi proposto na hipótese do presente trabalho. O grupo que apresentou os maiores valores de ambulação após tratamento com etanol por via intraperitoneal durante 21 dias, classificado como sensibilizado, não foi o que apresentou uma maior proporção de animais com perfil de recaída, ou seja, preferência pelo consumo das soluções etílicas durante o procedimento de auto-administração e aumento do consumo após um período de abstinência. No entanto, este grupo continuou a apresentar os maiores valores de ambulação ao final do experimento. Estes resultados sugerem que, apesar de a sensibilização comportamental ao etanol ser uma alteração persistente, não parece ser um fator determinante do consumo preferencial e da procura por esta droga.

De acordo com Wolffgramm e Heyne (1995) o consumo voluntário de drogas, entre elas etanol, apresentado por ratos submetidos a um procedimento de livre escolha, é inicialmente instável, variando diariamente. Após duas a três semanas, o consumo torna-se individualmente estável, porém é possível determinar diferenças entre os animais quanto à quantidade ou concentração consumida. Segundo estes autores, este período corresponderia, em humanos, à necessidade do indivíduo adquirir experiência com relação às conseqüências do consumo da droga no comportamento e no humor relacionadas aos fatores do ambiente e do indivíduo.

No presente estudo, a análise da estabilidade do consumo de água e de etanol durante a fase de livre escolha foi verificada através da análise de correlação entre uma semana e outra. Os grupos submetidos ao paradigma de livre escolha apresentaram consumo instável de ambos os líquidos no início do tratamento, sendo estabilizado a partir da sexta semana. O grupo controle do isolamento apresentou um consumo de água constante ao longo de todo o período, o que sugere que a instabilidade inicial no consumo apresentada pelos animais submetidos à livre escolha não está relacionada ao

estresse do isolamento ou das injeções administradas previamente, mas sim à presença das soluções de etanol.

Os animais submetidos ao paradigma de livre escolha, após um período de experimentação, definiram uma preferência estável entre o consumo de etanol e de água. Este consumo preferencial por um dos líquidos apresentados, tem sido utilizado como um critério para a definição de diferentes padrões de consumo apresentados pelos animais em modelos de auto-administração com livre escolha. Pesquisadores têm demonstrado que alguns animais consomem principalmente água, enquanto outros têm um consumo preferencial de etanol. Dentre os últimos, alguns passam a consumir quantidades significativamente maiores da droga após um período de abstinência (WOLFFGRAMM; HEYNE, 1995; WOLFFGRAMM et al., 2000; SPANAGEL; HÖLTER, 2000). De acordo com Spanagel e Hölder (2000), este aumento do consumo após a abstinência representaria uma situação de aumento motivacional ou *craving* pela droga. Este aumento do consumo, denominado efeito de privação do álcool, consistiria de um descontrole no incentivo motivacional para o consumo da droga e poderia representar o fenômeno da recaída observado em humanos mesmo após longos períodos de abstinência.

No presente estudo, animais que apresentaram estes comportamentos, ou seja, preferência por etanol e aumento significativo do consumo após a fase de retirada das soluções etílicas, foram classificados como “consumidores com recaída”. Animais que apresentaram preferência por etanol, e que retornaram ao padrão previamente estabelecido, ou apresentaram um consumo significativamente inferior na fase de reapresentação, foram classificados como “consumidores pesados”. Enquanto que, os animais que apresentaram um consumo preferencial de água foram classificados como “consumidores leves”, independente do padrão apresentado após a abstinência.

Além dos critérios classificatórios foram analisados também os consumos totais de líquidos e o de água ao longo das três fases experimentais. Foi observado que vários animais apresentaram um consumo total de líquidos inferior na fase de abstinência, sendo esta diferença significativa para 7 dos 15 animais com padrão de consumidor leve, 2 dos 8 animais com padrão de consumidor pesado e 1 dos 4 animais

com padrão de consumidor com recaída. Nos animais com padrão de consumidor pesado ou com recaída esta alteração foi acompanhada por mudanças no consumo de água ou etanol nas fases com livre escolha ou reapresentação, enquanto que, nos animais com padrão de consumidor leve, em sua maioria, não ocorreram alterações no consumo destes líquidos. Isto sugere que este consumo superior nas fases nas quais o etanol está presente se deva à procura pela água nas diferentes garrafas, uma vez que a posição das mesmas foi alterada a cada dois dias, levando a consumir etanol não por escolha, mas por não saberem previamente onde encontrar o líquido procurado.

Ainda em relação ao consumo total de líquidos foi observado um aumento do consumo na fase de reapresentação em relação à de abstinência para todos os animais com padrão de consumidor com recaída. Estes animais aumentaram o consumo de etanol sem diminuir o consumo de água (exceto o animal G17). Esta alteração da quantidade de líquidos consumida devido à reapresentação da droga após um período de abstinência reforça a idéia de aumento motivacional ou *craving* pela droga sugerida por Spanagel e Höltter (2000).

Com relação ao consumo de água nas três fases experimentais, foi observado que todos os animais com padrão de consumidor pesado e recaída apresentaram um aumento do consumo de água na fase de abstinência o que poderia sugerir uma procura pela droga durante essa fase. No entanto, como este aumento não se refletiu no consumo total de líquidos sugere-se que esta alteração esteja relacionada somente à ausência de livre escolha entre diferentes soluções fazendo com que os animais aumentassem seu consumo de água por este ser o único líquido oferecido. Seria interessante avaliar o consumo dos animais nas primeiras horas de abstinência para verificar se estes apresentariam um aumento no consumo total de líquidos o que poderia ser interpretado como comportamento de procura à droga de abuso.

De acordo com a teoria proposta por Robinson e Berridge (1993, 2000, 2001, 2003) a administração repetida de uma droga de abuso gera neuroadaptações que aumentam a característica motivacional da droga e dos estímulos a ela relacionados, este processo parece ser o responsável pelo desejo pela droga e pela sua procura e uso compulsivos. Segundo os autores, o desenvolvimento de sensibilização

comportamental prévia facilitaria a posterior aquisição de auto-administração da droga. Esses autores também relatam que o desenvolvimento de sensibilização psicomotora não está unicamente associado à administração da droga, mas depende de diversos fatores (individuais e ambientais, entre outros) que seriam responsáveis pela variação individual ao desenvolvimento desta neuroadaptação e que são postulados como responsáveis pela susceptibilidade ao desenvolvimento de dependência. Esta variação individual no desenvolvimento de sensibilização, a qual foi descrita por outros autores (SOUZA-FORMIGONI et al., 1999, QUADROS et al., 2002), tornou possível, no presente trabalho, classificar em dois grupos os animais que receberam etanol cronicamente. Aqueles animais que expressaram clara sensibilização psicomotora foram classificados como sensibilizados, enquanto que os animais que não expressaram esta alteração comportamental foram classificados como não-sensibilizados. Os demais grupos utilizados no presente trabalho como controles (controle da sensibilização e do isolamento) foram formados por animais sem prévia administração crônica de etanol.

Neste estudo, o desenvolvimento de sensibilização psicomotora pelos animais do grupo sensibilizado não diminuiu a latência necessária para a estabilização do consumo e, desta forma, parece não ter facilitado a procura pela droga. Além disso, esse procedimento prévio não levou os animais deste grupo a um consumo preferencial de etanol em relação à água, nem tampouco os tornou mais predispostos à recaída após um período de abstinência quando comparados com os outros grupos. A mesma conclusão é obtida quando são analisados os diferentes padrões individuais de consumo, uma vez que não foi observada uma maior porcentagem de camundongos com o padrão de consumidor com recaída no grupo sensibilizado.

A avaliação da ambulação dos animais após a exposição ao modelo de auto-administração demonstrou que o grupo sensibilizado continuou sendo o mais estimulado, no entanto, a ambulação avaliada previamente ao desenvolvimento do modelo e a avaliada ao término não se correlacionaram com o consumo de etanol durante a exposição ao modelo. Da mesma forma, não houve correlação entre o consumo de etanol e a ambulação quando foram considerados todos os animais

submetidos ao paradigma de livre escolha. Estes resultados sugerem que o desenvolvimento de sensibilização prévia não predispôs a um maior consumo de etanol pelos animais do grupo sensibilizado, e os animais com alto consumo de etanol durante o modelo de auto-administração não apresentaram maior ambulação ao final do experimento.

Esses resultados obtidos estão de acordo com Samson e Chappelle (1995) que, utilizando ratos Wistar num paradigma de livre escolha entre etanol e água na gaiola-casa, não encontraram correlação entre a preferência por etanol e a ambulação apresentada quer sem administração de drogas quer após administração de anfetamina. Também existe concordância com os resultados apresentados por Sanchez et al. (1996) que avaliaram o consumo de etanol em um procedimento de auto-administração operante por animais geneticamente selecionados por apresentar alta (FAST) ou baixa (SLOW) ambulação em resposta ao etanol. Estes autores não observaram diferenças entre as linhagens e sugerem que a resposta estimulante locomotora ao etanol não é um fator preditivo do consumo desta droga. No presente estudo, os animais do grupo controle da sensibilização (CS) que tiveram antes da exposição ao modelo de livre escolha a sua ambulação avaliada após a administração aguda de etanol, também não apresentaram correlação entre essa atividade locomotora e o consumo posterior de etanol durante o modelo. No entanto, os resultados obtidos por Päävärinta e Korpi (1993) apresentam evidências contrárias, pois eles observaram que animais geneticamente selecionados pela preferência por etanol (*alcohol-preferring AA rats*) apresentaram aumento da ambulação após o consumo voluntário de etanol em um paradigma de livre escolha entre etanol e água durante três semanas. Também Colombo et al. (1998) apresentaram dados discordantes do presente estudo, relatando um aumento na ambulação após uma semana de sessões diárias de consumo voluntário em um paradigma de livre escolha entre etanol e água, em outra linhagem geneticamente selecionada pela preferência por etanol (*Sardinian alcohol-preferring sP rats*). Entretanto nenhum destes estudos avaliou se este efeito também era observado em animais geneticamente selecionados pela não preferência por etanol (*alcohol-avoiding ANA rats* e *Sardinian alcohol-nonpreferring sNP rats*). No presente

estudo, aqueles animais do grupo controle da sensibilização, que foram expostos ao etanol apenas durante o modelo de livre escolha, não apresentaram atividade locomotora aumentada quando foram desafiados com uma dose de etanol após o término da exposição ao modelo, sugerindo que a simples exposição ao modelo de livre escolha não desencadeou a expressão da sensibilização ao efeito estimulante do etanol.

Outra característica importante da sensibilização é a sua persistência, alguns pesquisadores têm observado que uma vez desenvolvida a sensibilização psicomotora para drogas de abuso, seus efeitos no comportamento continuam a ser observados mesmo após longos períodos sem a droga (ROBINSON; BECKER, 1986; DE VRIES et al., 1998; ITZHAK et al., 2002). Segundo Robinson e Berridge (1993, 2000, 2001, 2003) este efeito de persistência da sensibilização psicomotora seria uma de suas características mais importantes para a dependência e poderia estar relacionada ao *craving* e à recaída após meses ou anos de abstinência.

No presente estudo, o grupo sensibilizado continuou a expressar a maior ambulação quando foi desafiado com uma dose de etanol ao final do procedimento de auto-administração comparado aos outros grupos. Porém houve uma redução na sua ambulação quando comparada com a sua atividade anterior à exposição ao modelo. Esta alteração persistente observada no grupo sensibilizado pode ser devido a neuroadaptações em circuitos neurais relacionados ao efeito de ativação locomotora induzida pela administração prévia de etanol. Pesquisadores têm demonstrado que camundongos classificados como sensibilizados apresentam alterações em receptores D_2 , e em mecanismos neurais relacionados aos circuitos responsáveis pela ambulação (caudado-putamen anterior), mas não em circuitos relacionados ao comportamento de procura à droga (núcleo accumbens) (SOUZA-FORMIGONI et al., 1999). Pode-se inferir que essa neuroadaptação nos circuitos relacionados com a atividade locomotora também tenha ocorrido nos animais utilizados no presente estudo, sendo a alteração comportamental decorrente desta neuroadaptação (aumento na ambulação) observada até quando os animais foram avaliados sem qualquer droga, durante o período de abstinência do etanol auto-administrado.

Os presentes dados sugerem que durante o período de administração da droga pelo experimentador poderiam ter ocorrido neuroadaptações nestes circuitos relacionados à atividade locomotora. Estas neuroadaptações estariam associadas aos estímulos ambientais presentes durante a administração crônica da droga pelo experimentador, assim a re-exposição dos animais a um procedimento similar (contexto semelhante), isto é, no final do procedimento de auto-administração e durante a fase de abstinência, poderia evocar a memória associada a estes estímulos influenciando o comportamento apresentado de aumento da ambulação, e que é sugerido por outros autores (ANAGNOSTARAS et al., 2002; ROBINSON; BERRIDGE, 2003).

Anagnostaras et al. (2002) demonstraram que animais desafiados com salina apresentaram aumento da ambulação em um ambiente anteriormente pareado com administração de anfetamina, enquanto que animais que também foram previamente expostos a anfetamina, porém em um ambiente diferente, não apresentaram alterações na ambulação. Os autores sugerem que contextos associados à droga possuem a habilidade de modular a expressão de sensibilização neural no comportamento produzindo respostas condicionadas. Estes autores se referem ao contexto como o aparelho onde o animal foi testado e que tinha sido previamente pareado com a administração da droga. No presente trabalho, nós propomos todo o ambiente da sala, inclusive o mesmo aparelho, como sendo o contexto associado à droga e que pode ser observado pela resposta do grupo sensibilizado durante o teste realizado na abstinência.

O grupo não-sensibilizado teve um aumento na ambulação após a exposição ao modelo de auto-administração, embora não tenha alcançado o mesmo nível de ambulação apresentado pelo grupo sensibilizado em ambas as ocasiões de testes. Esse aumento foi significativo tanto quando a atividade deste grupo foi comparada com a ambulação do grupo controle do isolamento como quando comparada com a sua própria ambulação prévia. Phillips et al. (1991) usando camundongos FAST e SLOW demonstraram que estas linhagens diferiram na latência para o desenvolvimento de sensibilização, sendo que os camundongos SLOW desenvolveram mais lentamente do

que os camundongos FAST, embora após exposição adicional ao etanol ambos os grupos alcançaram o mesmo nível de sensibilização.

Os presentes dados sugerem que o procedimento de auto-administração foi capaz de fazer com que animais que anteriormente não expressaram sensibilização psicomotora aos efeitos estimulantes do etanol passassem a expressá-la ao final do experimento, porém em menor magnitude. Estes dados estão de acordo com os obtidos por Phillips et al. (1991) sugerindo que o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante do etanol apresenta diferentes latências para os diferentes animais. Além disso, esses resultados também sugerem que a sensibilização comportamental ocorreu após a auto-administração da droga, estando de acordo com alguns autores (PÄIVÄRINTA; Korp, 1993; DE VRIES et al. 1998), mas em desacordo com outros (SAMSON; CHAPPELLE, 1995). No entanto, é importante ressaltar novamente que a simples exposição ao procedimento de livre escolha não foi capaz de expressar a sensibilização em todos os animais do grupo controle da sensibilização. Uma possível explicação seria que no grupo não-sensibilizado os estímulos do ambiente associados à administração prévia forçada de etanol promoveram uma predisposição ao desenvolvimento da sensibilização ao efeito estimulante do etanol durante o procedimento de livre escolha, de maneira que quando os animais foram desafiados com uma dose de etanol no final do experimento a sensibilização foi expressa.

A ausência de um aumento significativo na atividade dos animais do grupo controle da sensibilização após o procedimento de auto-administração de etanol poderia ser explicada pelo fato de que a sensibilização comportamental é um fenômeno contexto-específico. No presente estudo o procedimento de auto-administração foi conduzido em um ambiente diferente daquele utilizado para avaliação do comportamento. Desta forma, é possível que tenha ocorrido a indução de sensibilização neste grupo, no entanto ela somente seria expressa no comportamento no mesmo ambiente onde a droga tinha sido previamente administrada e onde ela é esperada. Anagnostaras et al. (2002) sugerem que se os animais receberem a droga em um determinado ambiente eles formariam uma expectativa de que somente receberiam a droga naquele ambiente. Os mesmos autores sugerem que ocorreria um processo

associativo inibitório prejudicando a expressão de sensibilização comportamental em um ambiente onde a droga não é esperada.

Uma observação interessante e que merece mais estudos foi a correlação positiva significativa observada no grupo não-sensibilizado entre a ambulação apresentada no início do modelo de auto-administração e o consumo ou a preferência pelo etanol. No entanto, a avaliação locomotora do final do tratamento mostrou ausência de correlação com o consumo apesar deste grupo apresentar aumento significativo da ambulação nesta ocasião em relação à avaliação inicial. Uma possível explicação seria que estas são neuroadaptações diferentes e mediadas por circuitos centrais diferentes, mas que interagem entre si com prevalência de uma sobre a outra e que dependeriam de fatores individuais e ambientais para se manifestar. Quando as características individuais favorecessem o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante locomotor a neuroadaptação responsável pelo comportamento de procura à droga não seria saliente, de maneira que a sensibilização ao efeito estimulante do etanol seria protetora em vez de ser predisponente para a dependência.

Outros estudos têm demonstrado que tratamentos farmacológicos capazes de alterar a ambulação não modificam a aquisição de preferência condicionada de lugar pelo etanol, sendo o oposto também observado. Os autores sugerem que os processos neuroquímicos que alteram a ambulação induzida pelo etanol não são os mesmos responsáveis pela alteração da recompensa obtida pelo pareamento com uma droga ou pela auto-administração de etanol (BOYCE; RISINGER, 2000, RISINGER; BOYCE, 2002). Além disso, têm sido demonstradas alterações na ligação a receptores de forma diferenciada para animais que expressam sensibilização comportamental e animais que não o fazem. Enquanto animais classificados como sensibilizados pelo etanol, apresentam aumento de *binding* em receptores D₂ em circuitos ligados a ambulação (núcleo caudado-putamen anterior), (SOUZA-FORMIGONI et al. 1999), animais resistentes à sensibilização apresentam um número aumentado de *binding* em receptores NMDA em circuitos relacionados à recompensa e estimulação psicomotora (camada interna do núcleo accumbens e córtex pré-frontal) (QUADROS et al., 2002).

Esses resultados corroboram os obtidos no presente trabalho, e sugerem que a sensibilização psicomotora, observada como um aumento na ambulação, não ocorre através dos mesmos mecanismos de neuroadaptação responsáveis pelo aumento de saliência para a droga e estímulos a ela relacionados. Para verificar se realmente ocorreram neuroadaptações em sistemas neurais diferentes para os animais que desenvolveram sensibilização locomotora e os que apresentaram maior consumo de etanol, seriam necessários outros estudos, como por exemplo, ensaios autorradiográficos.

Resumindo, quando se pretendeu avaliar se a sensibilização prévia ao efeito estimulante do etanol levaria a uma maior predisposição para desenvolver em um modelo de livre escolha a preferência pelo etanol e a recaída ao consumo, após um período de abstinência, foram observadas as seguintes evidências:

1. os animais que expressaram maior sensibilização previamente à exposição ao modelo (grupo sensibilizado) não apresentaram qualquer correlação entre a atividade locomotora e a preferência ou o consumo de etanol, tanto quando a ambulação foi avaliada antes da exposição ao modelo quanto após a exposição.

2. os animais que expressaram menor sensibilização previamente à exposição ao modelo (grupo não-sensibilizado) apresentaram correlação positiva entre a atividade locomotora e a preferência ou o consumo de etanol na avaliação realizada antes da exposição ao modelo, enquanto que essa correlação desapareceu na avaliação após a exposição ao modelo.

3. os animais que receberam apenas dose aguda de etanol antes da exposição ao modelo de livre escolha também não apresentaram qualquer correlação entre a sua atividade locomotora e o consumo ou a preferência do etanol, sugerindo que a resposta locomotora aguda ao etanol não prediz o padrão de procura pelo etanol no modelo de livre escolha. No entanto, este grupo apresentou correlação negativa significativa entre a ambulação apresentada ao término do modelo de livre escolha e o consumo e a preferência de etanol.

Quando se avaliou a resposta a uma dose desafio de etanol administrada após a exposição ao modelo de livre escolha outras evidências foram observadas:

1. a simples exposição ao modelo de livre escolha não evidenciou a expressão da sensibilização ao efeito estimulante do etanol quando os animais foram desafiados com dose aguda de etanol, que pode ser constatado pelo comportamento do grupo controle da sensibilização.

2. animais que expressaram a sensibilização ao efeito estimulante do etanol (grupo sensibilizado) antes da exposição ao modelo de livre escolha continuaram a expressá-la após a exposição sugerindo a ocorrência de uma alteração persistente nos circuitos relacionados com a atividade locomotora, porém, sem predispor ao comportamento de procura pelo etanol.

3. animais que não expressaram a sensibilização ao efeito estimulante do etanol (grupo não-sensibilizado) antes da exposição ao modelo de livre escolha passaram a expressá-la após a exposição demonstrando uma latência maior para o desenvolvimento da sensibilização. Isto sugere que provavelmente alguma associação entre os estímulos do ambiente e a administração forçada de etanol ocorreu, embora a sensibilização não tenha sido expressa inicialmente. Com a exposição ao modelo de livre escolha os efeitos farmacológicos do etanol ingerido promoveram uma interação com circuitos centrais relacionados com aquela associação, de maneira que quando os animais foram desafiados com etanol observou-se a expressão da sensibilização, porém com magnitude inferior àquela apresentada pelos animais do grupo sensibilizado. Porém, desapareceu aquela correlação positiva apresentada entre a ambulação na avaliação prévia ao modelo e o consumo ou a preferência de etanol, sugerindo que o desenvolvimento de sensibilização ao efeito estimulante do etanol nestes animais prevaleceu sobre o desenvolvimento do comportamento de procura ao álcool.

Diante de todas essas evidências apresentadas pode-se sugerir que:

1. a sensibilização prévia não predispõe ao comportamento de procura pelo álcool.

2. a sensibilização ao efeito estimulante locomotor do etanol e o comportamento de procura pelo álcool são mediados por circuitos centrais diferentes, mas que parecem interagir entre si.

CONCLUSÃO

7.0 CONCLUSÕES

- A administração i.p. de etanol durante 21 dias foi capaz de induzir sensibilização comportamental ao efeito estimulante desta droga.
- Os animais apresentaram grande variabilidade na atividade locomotora no teste de ambulação na caixa de movimentação espontânea após tratamento crônico com etanol (2g/kg i.p.), o que permitiu a classificação em dois grupos: sensibilizado (animais que expressaram sensibilização psicomotora) e não-sensibilizado (animais que não expressaram esta neuroadaptação).
- Os animais do grupo sensibilizado não apresentaram um consumo preferencial de etanol em relação aos demais grupos. Este grupo também não demonstrou uma maior predisposição ao aumento do consumo após a retirada das soluções etílicas.
- A sensibilização psicomotora desenvolvida pelo grupo sensibilizado se manteve após o período de auto-administração de etanol e foi expressa mesmo na ausência desta droga.
- A auto-administração de etanol induziu sensibilização psicomotora no grupo não-sensibilizado, porém em um menor grau do que o observado quando a droga é administrada i.p. pelo experimentador.
- No entanto, a auto-administração de etanol *per se* não foi capaz de induzir sensibilização psicomotora no grupo de animais que não tiveram administração i.p. de etanol previamente ao modelo (controle da sensibilização).

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION – APA. **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – DSM-IV**. 4ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1995.

ANAGNOSTARAS, S. G.; SCHALLERT, T.; ROBINSON, T. E. Memory processes governing amphetamine-induced psychomotor sensitization. **Neuropsychopharmacology**, v. 26, n. 6, p.703-715, 2002.

ANTON, F. R. What is craving? Models and implications for treatment. **Alcohol Res Health**, v. 23, n. 3, p. 165 -173, 1999.

BOERNGEN-LACERDA R.; SOUZA-FORMIGONI M. L. O. Does the increase in locomotion induced by ethanol indicate its stimulant or anxiolytic properties? **Pharmacol Biochem Behav**, v. 67, n. 2, p. 225-232, 2000.

BOYCE, J. M.; RISINGER, F.O. Enhancement of ethanol reward by dopamine D3 receptor blockade. **Brain Res**, v. 880, p. 202-206, 2000.

BROWMAN, K. E.; BADIANI, A.; ROBINSON, T. E. Modulatory effect of environmental stimuli on the susceptibility to amphetamine sensitization: a dose-effect study in rats. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 287, n. 3, p. 1007-1014, 1998.

CARLINI, E. A.; GALDURÓZ, J. C.; NOTO, A. R.; NAPPO, A. S. **I Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil – 2001**. São Paulo: CEBRID – Unifesp, 2002.

COLOMBO, G.; AGABIO, R.; LOBINA, C.; REALI, R.; VACCA, G.; GESSA, G. L. Stimulation of locomotor activity by voluntarily consumed ethanol in Sardinian alcohol-preferring rats. **Eur J Pharmacol**, v. 357, p.109-113, 1998.

DE VRIES, T. J.; SCHOFFELMEER, A. N. M.; BINNEKADE, R.; MULDER, A. H.; VANDERSCHUREN, L. J. M. J. Drug-induced reinstatement of heroin and cocaine-seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioral sensitization. **Eur J Neurosci**, v. 10, p. 3565-3571, 1998.

DI CHIARA, G. Alcohol and dopamine. **Alcohol Health Res**, v. 21, n. 2, p. 108-113, 1997.

DOHRMAN, D. P.; DIAMOND, I.; GORDON, A. S. The role of the neuromodulator adenosine in alcohol's actions. **Alcohol Health Res**, v. 21, n. 2, p. 136-143, 1997.

FADDA, F.; ROSSETTI, Z. L. Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. **Prog Neurobiol**, v. 56, p. 385-431, 1998.

FROEHLICH, J. C. Opioid peptides. **Alcohol Health Res**, v. 21, n. 2, p. 132-136, 1997.

FROMME, K.; D'AMICO, E. J. Neurobiological bases of alcohol's psychological effects. In: LEONARD, K. E.; BLANE, H. T. (Ed.). **Psychological theories of drinking and alcoholism**. 2 ed. New York: The Guilford Press, 1999. p. 422-455.

GOELDNER, F. O. **Aparelhagem para testes comportamentais**. 2001. 3 fot.: color.; 10 x 15 cm.

GOLDSTEIN, R. Z.; VOLKOW, N. D. Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. **Am J Psychiatry**, v. 159, p. 1642-1652, 2002.

GONZALES, R. A.; JAWORSKI, J. N. Alcohol and glutamate. **Alcohol Health Res**, v. 21, n. 2, p. 120-127, 1997.

HYMAN, S. E.; MALENKA, R. C. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, p. 695-703, 2001.

HOSHAW, B. A.; LEWIS, M. J. Behavioral sensitization to ethanol in rats: evidence from the Sprague-Dawley strain. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 68, n. 4, p. 685-690, 2001.

ITZHAK, Y.; MARTIN, J. L. Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity in mice. Long-lasting sensitization to the locomotor stimulation and desensitization to the rewarding effects of methamphetamine. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 26, p. 1177-1183, 2002.

KOOB, G. F. Animal models of craving for ethanol. **Addiction**, v. 95, n. 2, p. 73-81, 2000.

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

KOOB, G. F.; LE MOAL, M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. **Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 2, p. 97-129, 2001.

KORPI, E. R.; MÄKELÄ R.; UUSI-OUKARI M. Ethanol: novel actions on nerve cell physiology explain impaired functions. **News Physiol Sci**, v. 13, p. 164-170, 1998.

LOVINGER, D. M. Serotonin's role in alcohol's effects on the brain. **Alcohol Health Res**, v. 21, n. 2, p. 114-120, 1997.

MASUR, J.; BOERNGEN, R. The excitatory component of ethanol in mice: a chronic study. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 13, p. 777-780, 1980.

MASUR, J.; OLIVEIRA DE SOUZA, M. L.; ZWICKER, A. P. The excitatory effect of ethanol: absence in rats, no tolerance and increased sensitivity in mice. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 24, p. 1225-1228, 1986.

MIDDAUGH, L. D.; FAVARA, J. P.; BOGGAN, W. O. Ethanol stimulation after chronic exposure in C57 mice. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 34, n. 2, p. 331-335, 1989.

MIHIC, S. J.; HARRIS, R. A. GABA and the GABA_A receptor. **Alcohol Health Res**, v. 21, n. 2, p. 127-132, 1997.

NAGY, L. E.; DIAMOND, I.; CASSO, D. J.; FRANKLIN, C.; GORDON, A. S. Ethanol increases extracellular adenosine by inhibiting adenosine uptake via the nucleoside transporter. **J Biol Chem**, v. 265, n. 4, p. 1946-1951, 1990.

PÄIVÄRINTA, P.; KORPI, E. R. Voluntary ethanol drinking increases locomotor activity in alcohol-preferring AA rats. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 44, p. 127-132, 1993.

PHILLIPS, T. J.; BURKHART-KASCH, S.; CRABBE, J. C. Locomotor activity response to chronic ethanol treatment in selectively bred Fast and Slow mice. **Alcohol Alcohol**, v. 1, p. 109-113, 1991.

QUADROS, I. M. H.; HIPÓLIDE, D. C.; FRUSSA-FILHO, R.; DE LUCCA, E. M.; NOBREGA, J. N.; SOUZA-FORMIGONI, M. L. O. Resistance to ethanol sensitization is associated with increased NMDA receptor binding in specific brain areas. **Eur J Pharmacol**, v. 442, p. 55-61, 2002.

RISINGER, F. O.; BOYCE, J. M. 5-HT_{1A} receptor blockade and the motivational profile of ethanol. **Life Sciences**, v. 71, p. 707-715, 2002.

ROBERTS, A. J.; KOOB, G. F. The neurobiology of addiction: an overview. **Alcohol Res Health**, v. 21, n. 2, p. 101-106, 1997.

ROBINSON, T. E.; BECKER, J. B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. **Brain Res Brain Res Rev**, v. 11, p. 157-198, 1986.

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

_____. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. **Addiction**, v. 95, n. 2, p. 91-117, 2000.

_____. Mechanisms of action of addictive stimuli: incentive-sensitization and addiction. **Addiction**, v. 96, p. 103-114, 2001.

_____. Addiction. **Annu Rev Psychol**, v. 54, p. 25-53, 2003.

SAMSON, H. H.; CHAPPELLE, A. M. Home-cage ethanol consumption and motor activity: lack of relation to either initial activity or amphetamine-induced locomotion. **Alcohol**, v. 12, n. 1, p. 37-42, 1995

SANCHEZ, F. P.; DICKENSON, L. GEORGE, F. R. Ethanol self-administration is genetically independent of locomotor stimulation in Fast and Slow mice. **Alcohol**, v. 13, n. 1, p. 79-84, 1996.

SOUZA-FORMIGONI, M. L. O.; DE LUCCA, E. M.; HIPÓLIDE, D. C.; ENNS, S. C.; OLIVEIRA, M. G. M.; NOBREGA, J. N. Sensitization to ethanol's stimulant effect is associated with region-specific increases in brain D2 receptor binding. **Psychopharmacology**, v. 146, p. 262-267, 1999.

SPANAGEL, R.; HÖLTER, S. M. Pharmacological validation of a new animal model of alcoholism. **J Neural Transm**, v. 107, p. 669-680, 2000.

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

UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Alcohol and the brain: neuroscience and neurobehavior. In: **Special report to the United States Congress on Alcohol and Health**. 10 ed. United States: National Institutes of Health and Human Services, 2000. p. 78-133.

VALENZUELA, C. F; Alcohol and neurotransmitter interactions. **Alcohol Res Health**, v. 21, n. 2, p. 144-148, 1997.

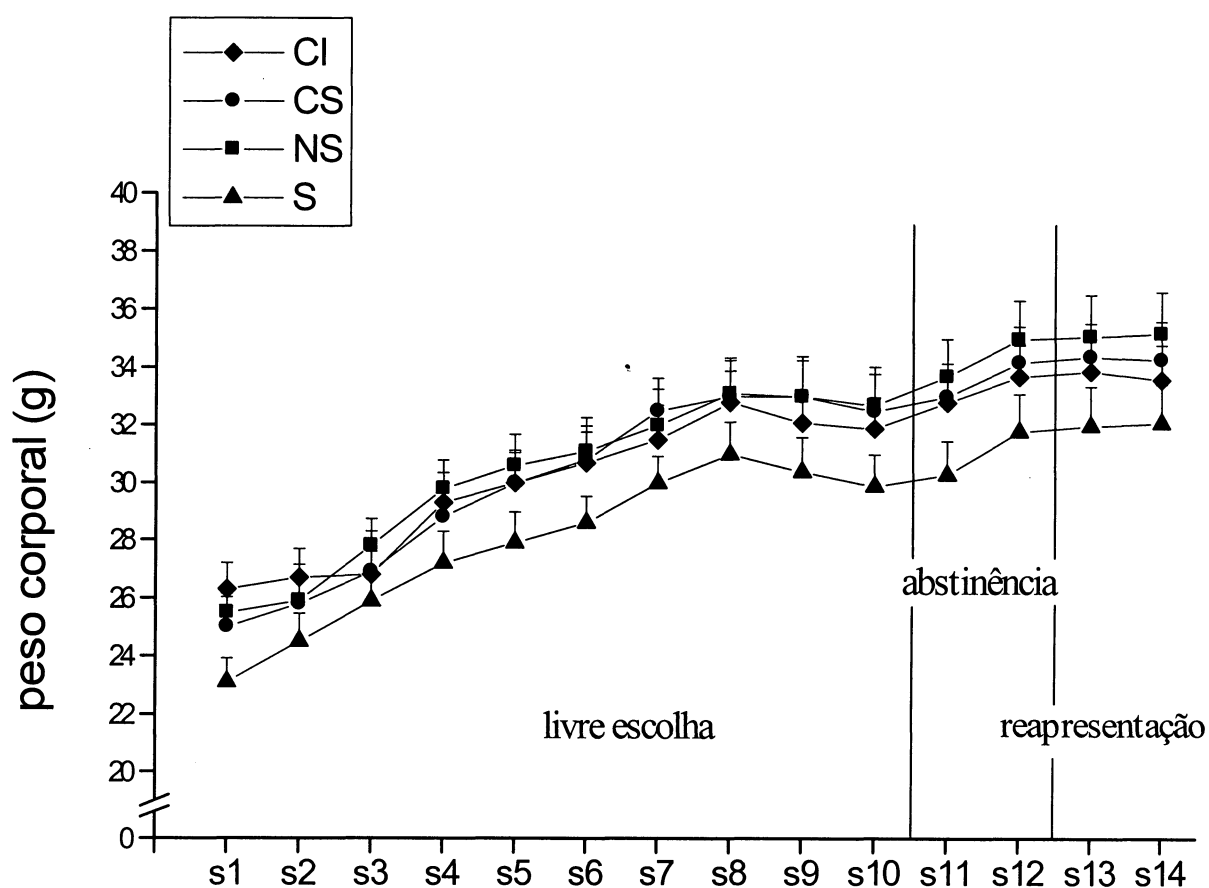
WEINSHENKER, D.; RUST, N. C. MILLER, N. S. PALMITER, R. D. Ethanol-associated behaviors of mice lacking norepinephrine. **J Neurosci**, v. 20, n. 9, p. 3157-3161, 2000.

WOLFFGRAMM, J., HEYNE, A. From controlled drug intake to loss of control: the irreversible development of drug addiction in the rat. **Behav Brain Res**, v. 70, p. 77-94, 1995.

WOLFFGRAMM, J., GALLI, G., THIMM, F.; HEYNE, A. Animal models of addiction: models for therapeutic strategies? **J Neural Transm**, v. 117, p. 649-668, 2000.

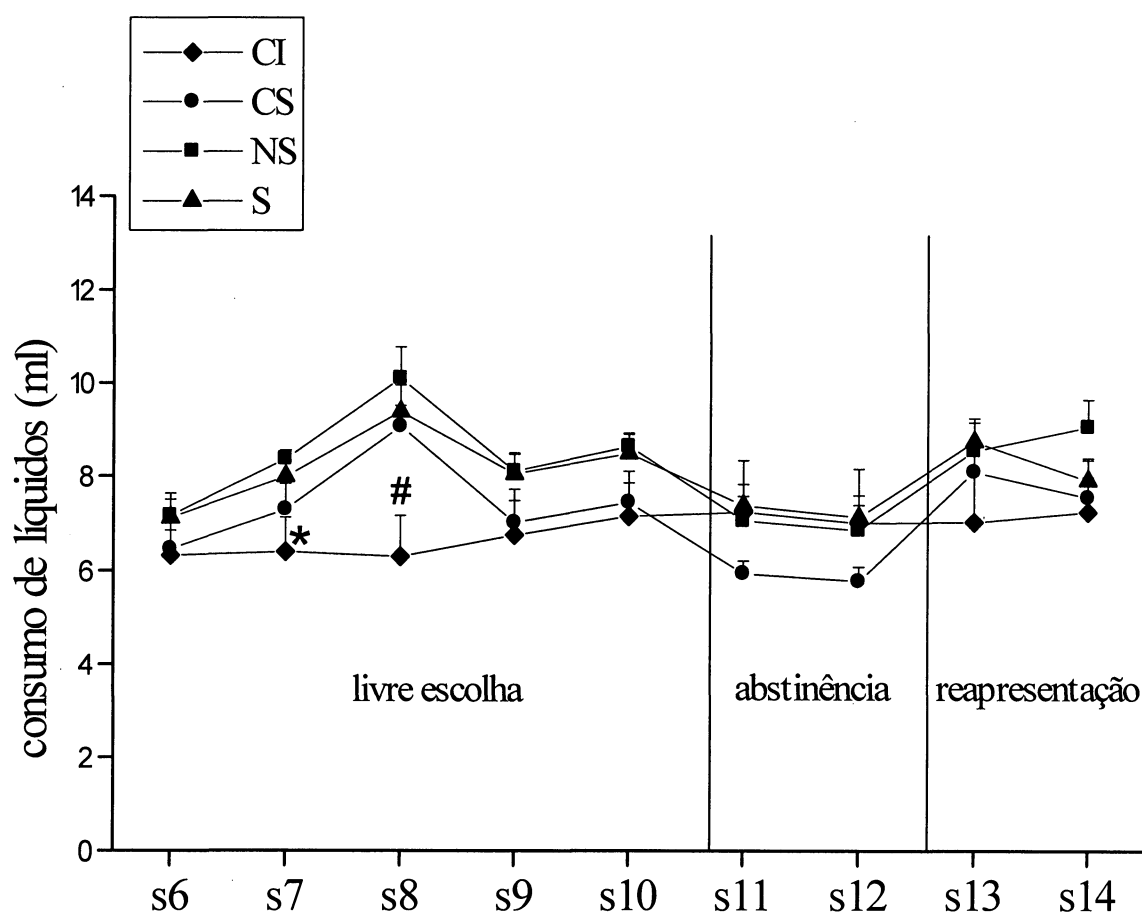
APÊNDICE

APÊNDICE 1 – PESO SEMANAL DOS ANIMAIS DOS QUATRO GRUPOS
EXPERIMENTAIS DURANTE AS FASES DO MODELO DE
AUTO-ADMINISTRAÇÃO



NOTA 1: Média $\pm$ erro padrão do peso (g) dos animais dos quatro grupos experimentais avaliados semanalmente durante o modelo de auto-administração. (CI) controle do isolamento; (CS) controle da sensibilização; (NS) não-sensibilizado e (S) sensibilizado. Abreviações significam: (s6 a s14) semanas do modelo de auto-administração. ANOVA ($p > 0,05$).

APÊNDICE 2 – CONSUMO DE LÍQUIDOS SEMANAL DOS ANIMAIS DOS QUATRO GRUPOS EXPERIMENTAIS DURANTE AS FASES DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO



NOTA 2: Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário de líquidos (ml) dos animais dos quatro grupos experimentais nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. O volume de líquidos nas fases de livre escolha e de reapresentação corresponde à água + etanol para os grupos submetidos ao paradigma de livre escolha: (CS) controle da sensibilização, (NS) não-sensibilizado e (S) sensibilizado e somente água para o grupo controle do isolamento (CI). Símbolos representam: (#) difere do consumo dos demais grupos na mesma semana, (*) difere do consumo do grupo não-sensibilizado na mesma semana. ANOVA ($p > 0,05$).

APÊNDICE 3 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO CONTROLE DA SENSIBILIZAÇÃO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR LEVE

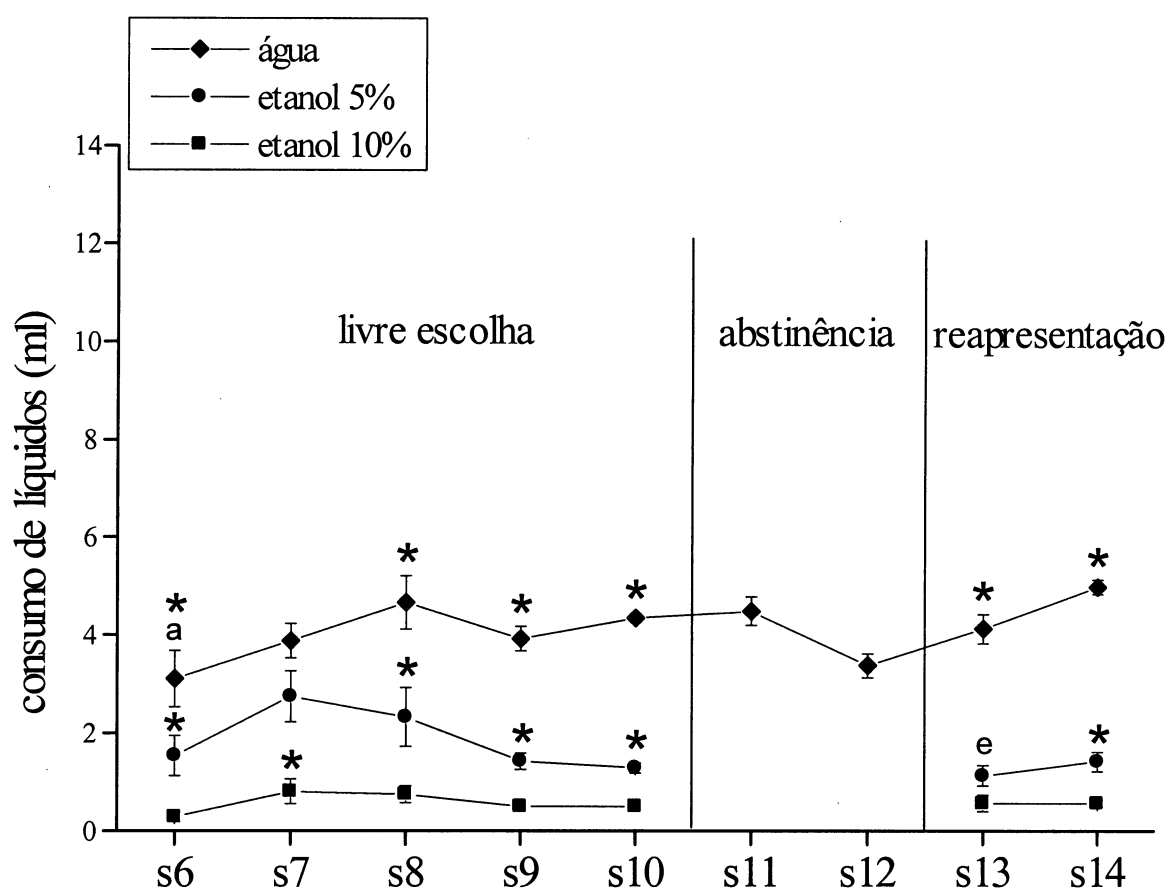


FIGURA 3: Consumo de etanol e água do animal G5. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas semanas 8 e 14, (e) difere do consumo de etanol 5% na semana 7, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

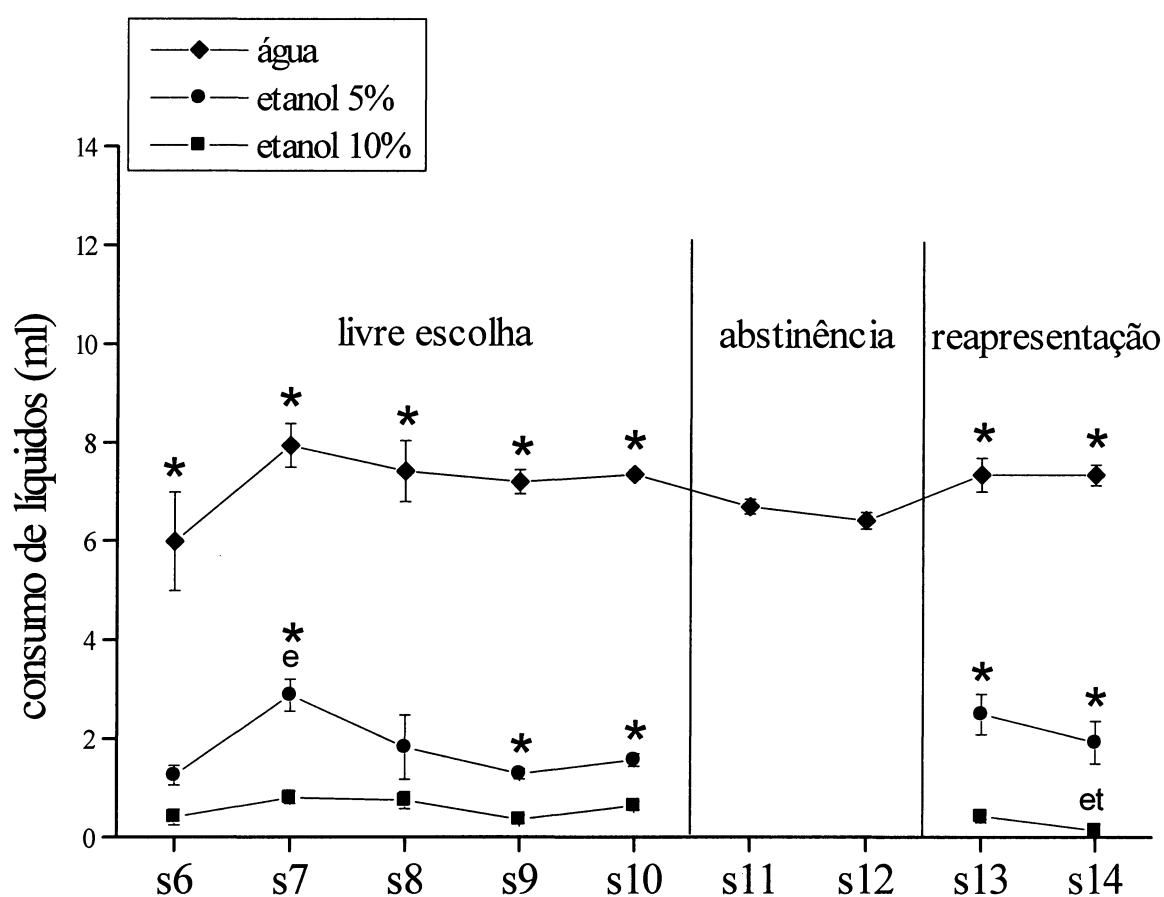


FIGURA 4: **Consumo de etanol e água do animal G8.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 6 e 9, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 7 e 8, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

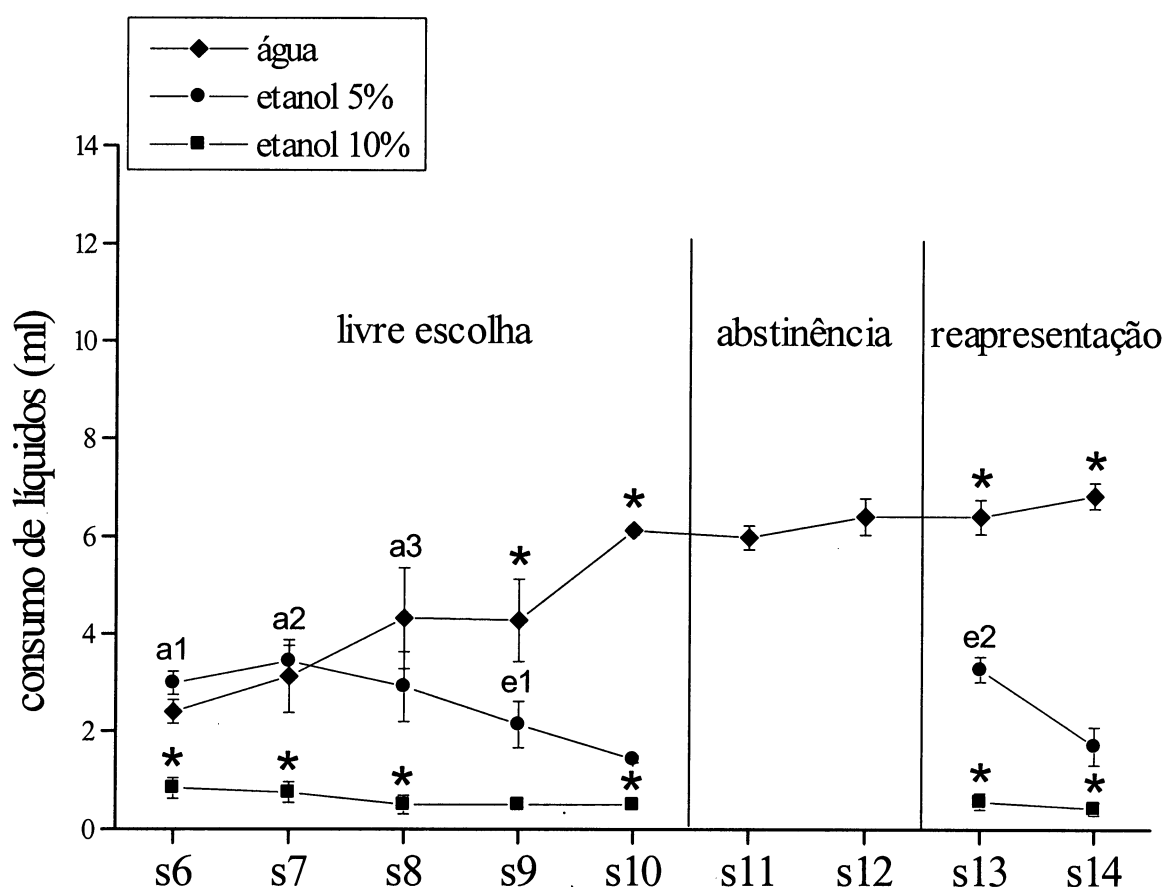


FIGURA 5: **Consumo de etanol e água do animal G11.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a1) difere do consumo de água nas semanas 9, 10, 11, 12, 13 e 14, (a2) difere do consumo de água nas semanas 10 e 14, (a3) difere do consumo de água nas semanas 11, 12 e 14, (e1) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 6, 7, 8 e 13, (e2) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 10 e 14 (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

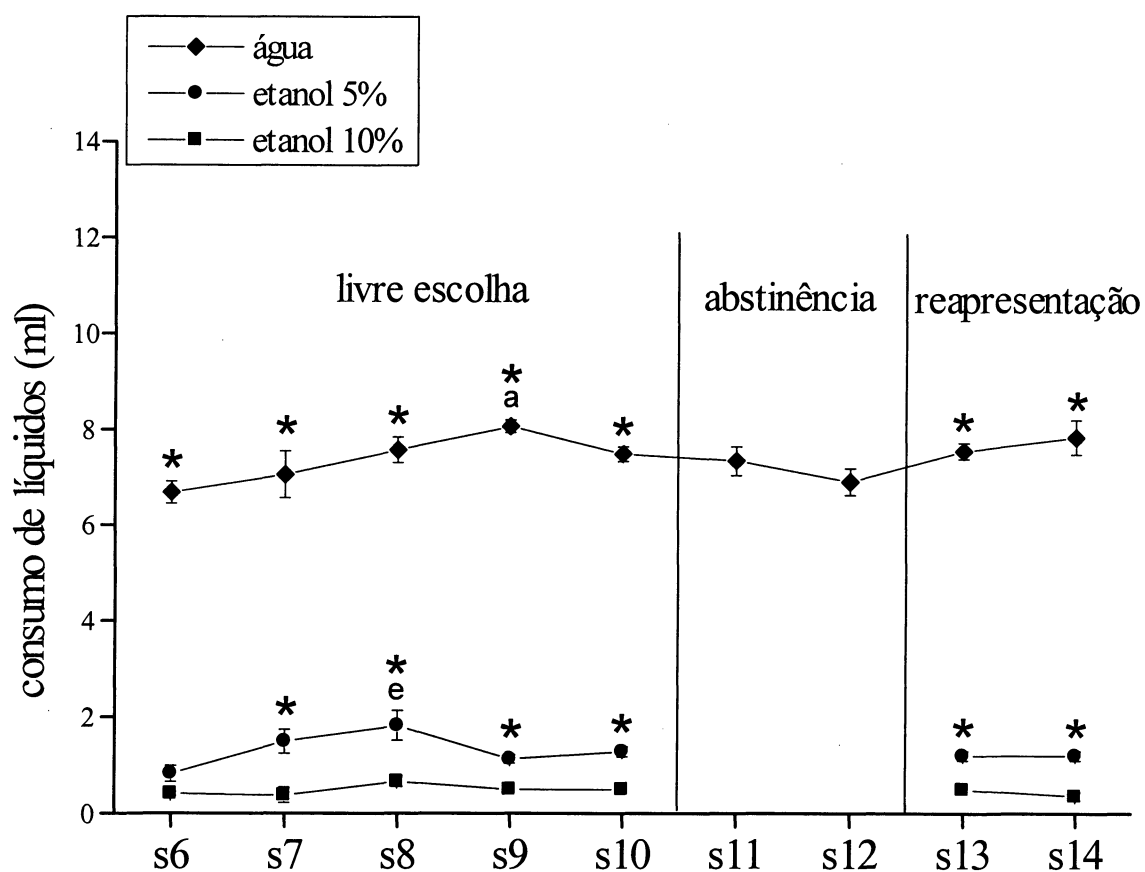


FIGURA 6: Consumo de etanol e água do animal G24. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água na semana 6, (e) difere do consumo de etanol 5% na semana 6, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

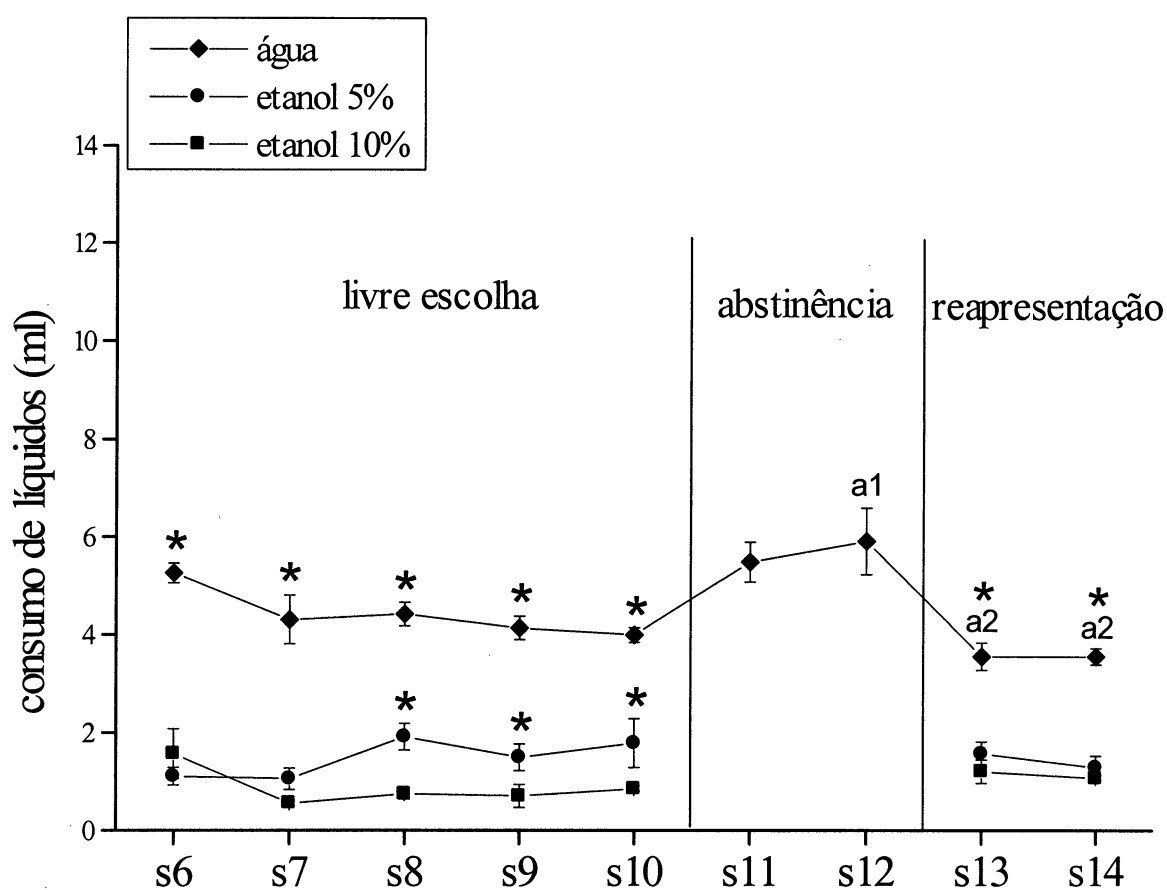


FIGURA 7: **Consumo de etanol e água do animal G25.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a1) difere do consumo de água nas semanas 7, 8, 9, 10 e 13, (a2) difere do consumo de água nas semanas 6 e 11, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

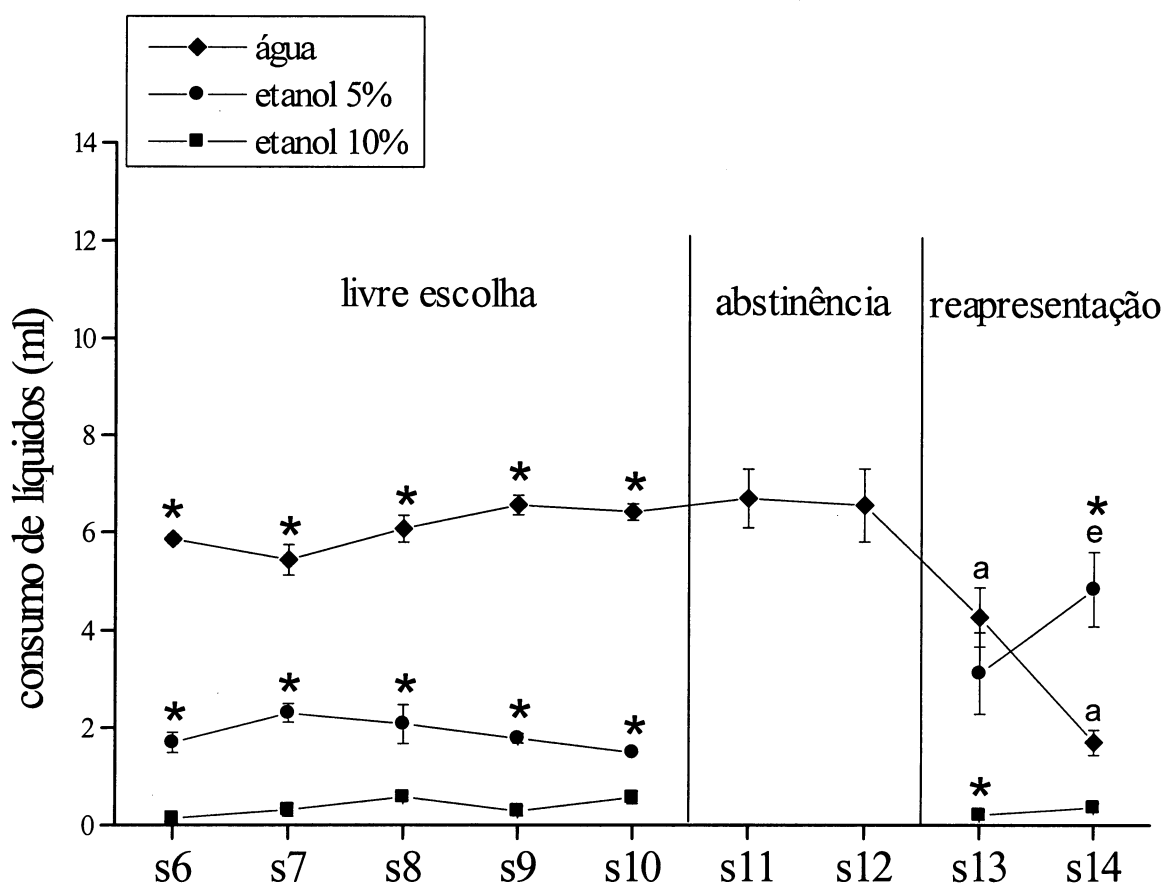


FIGURA 8: Consumo de etanol e água do animal G27. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas demais semanas, (e) difere do consumo de etanol 5% nas demais semanas, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 4 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO CONTROLE DA SENSIBILIZAÇÃO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR PESADO

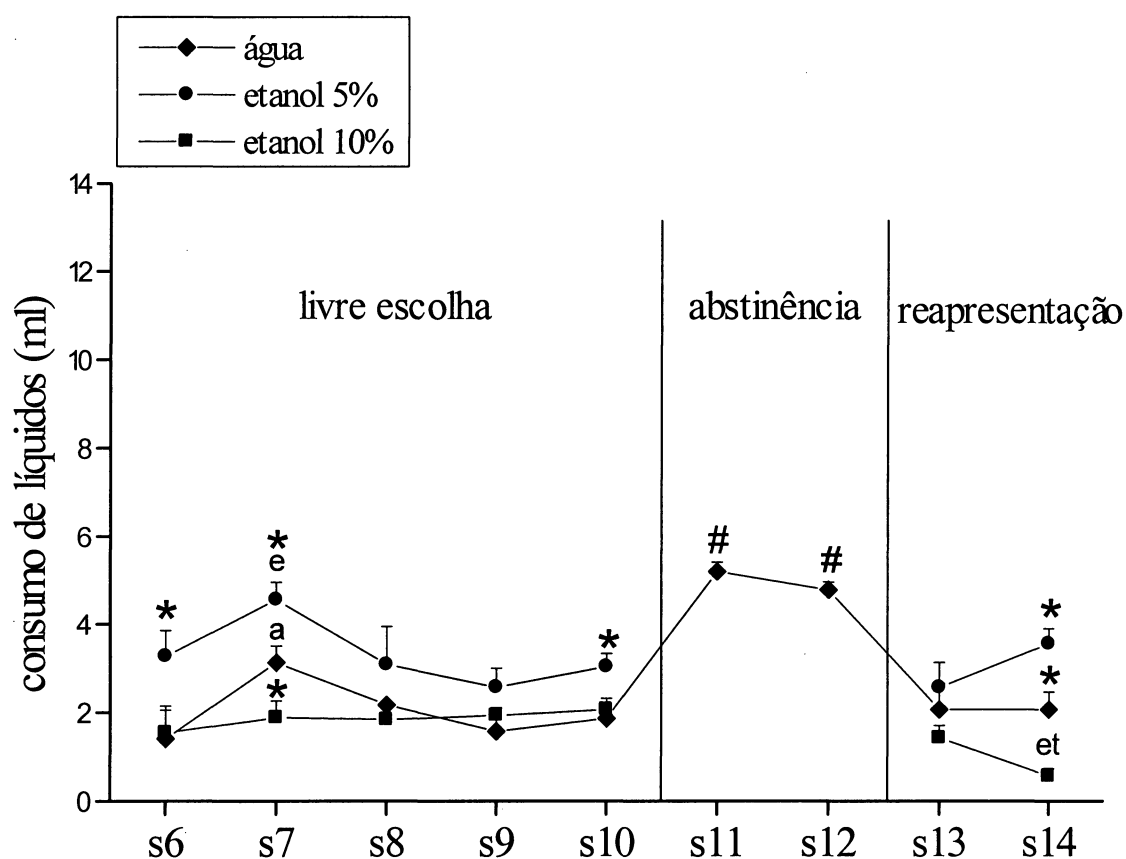


FIGURA 9: Consumo de etanol e água do animal G1. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (a) difere do consumo de água nas semanas 6 e 9, (e) difere do consumo de etanol 5% na semana 13, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 7, 8, 9 e 10, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

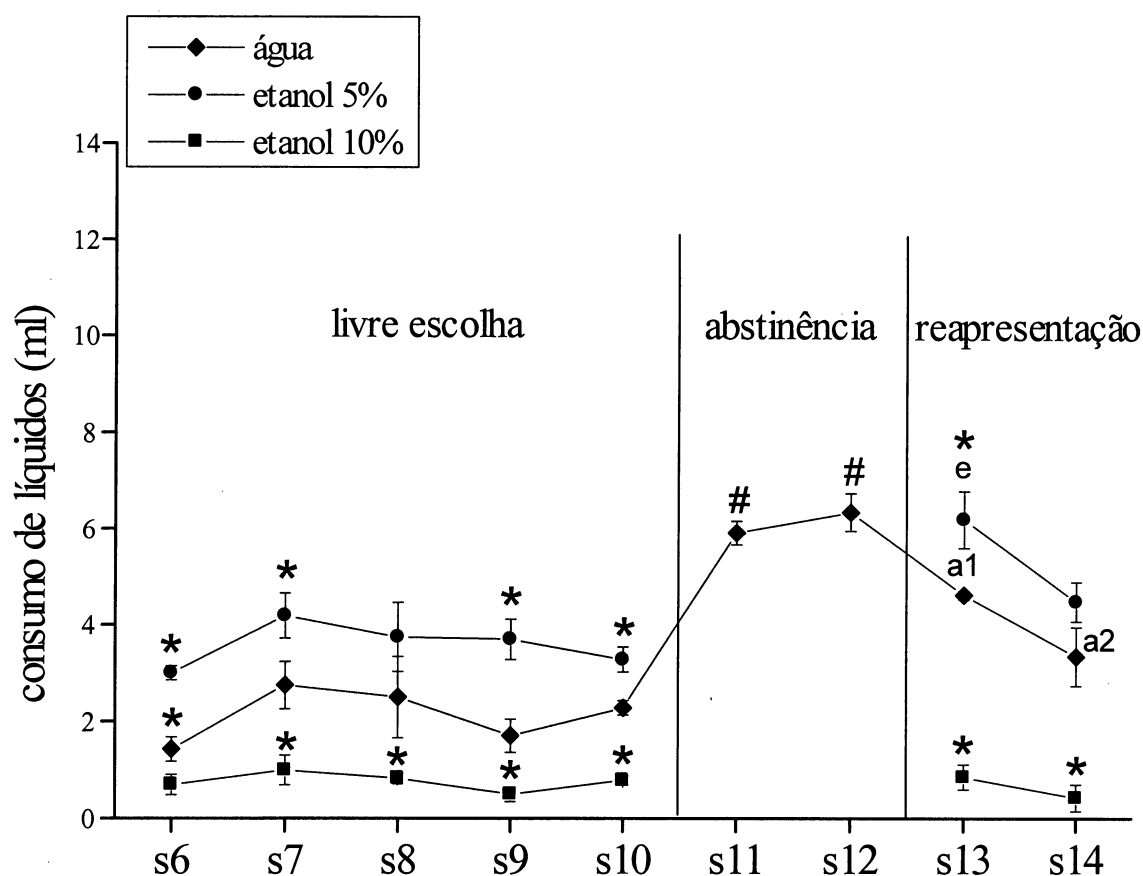


FIGURA 10: Consumo de etanol e água do animal G10. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (a1) difere do consumo de água nas demais semanas, (a2) difere do consumo de água nas semanas 6, 11, 12 e 13, (e) difere do consumo de etanol 5% em todas as demais semanas, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 5 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO CONTROLE DA SENSIBILIZAÇÃO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR COM RECAÍDA

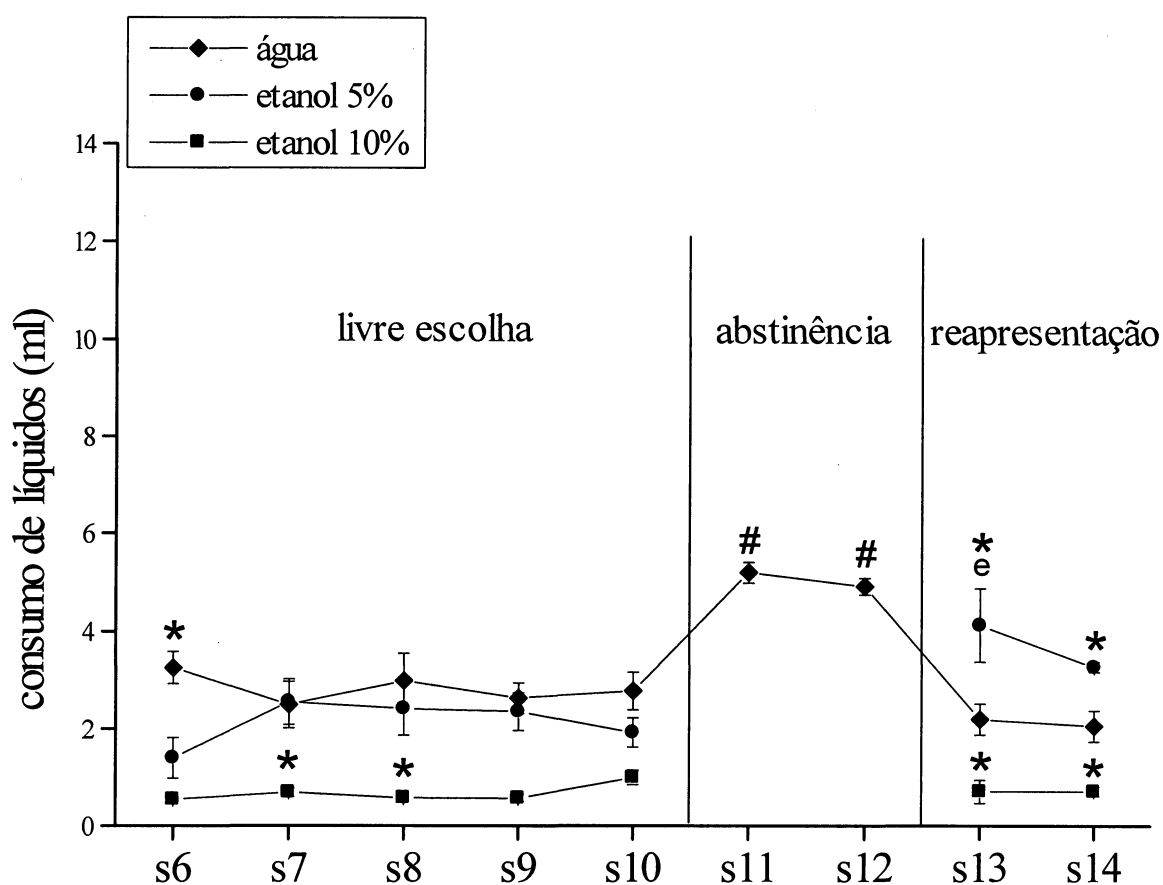


FIGURA 11: **Consumo de etanol e água do animal G17.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 1 e 10, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

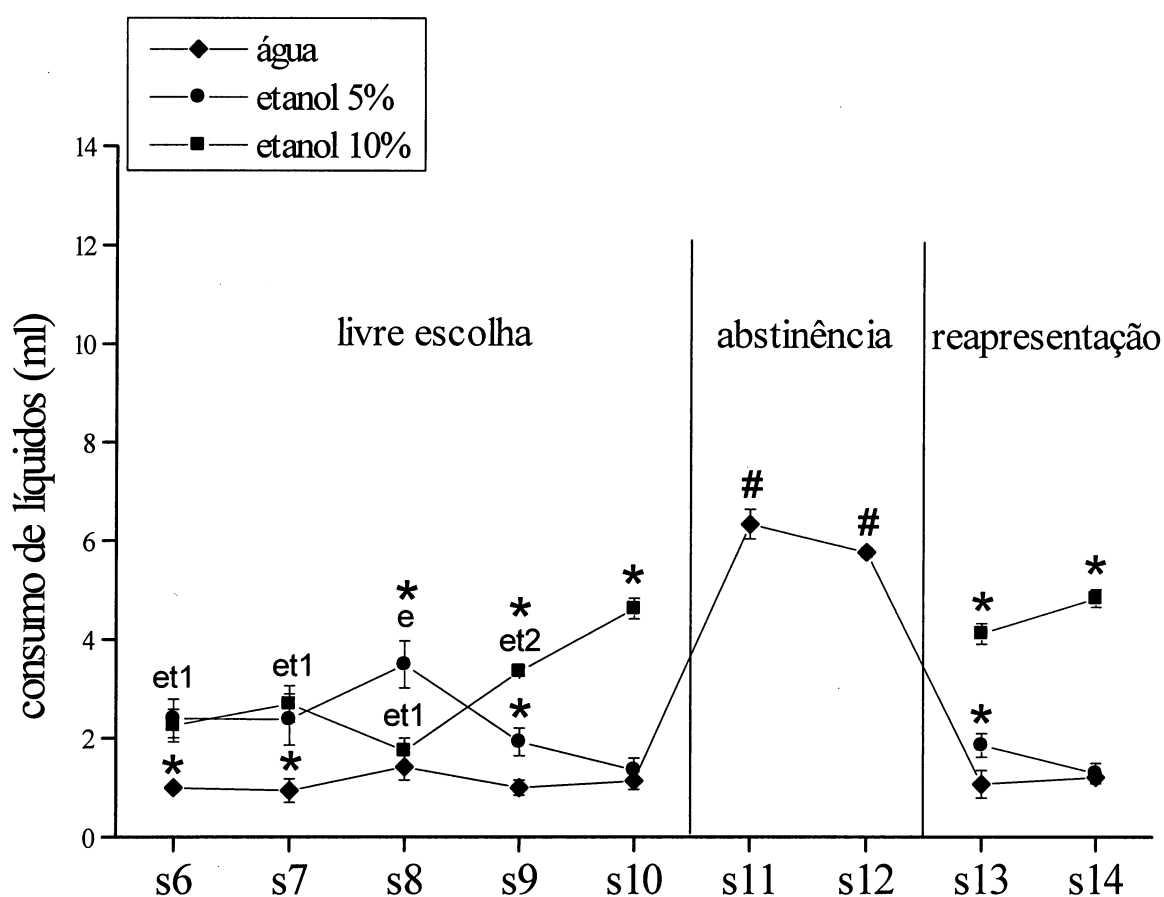


FIGURA 12: **Consumo de etanol e água do animal G20.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 6, 8, 9, 10, 13 e 14, (et1) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 10, 13 e 14, (et2) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 6, 8, 10, 13 e 14, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 6 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO NÃO-SENSIBILIZADO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR LEVE

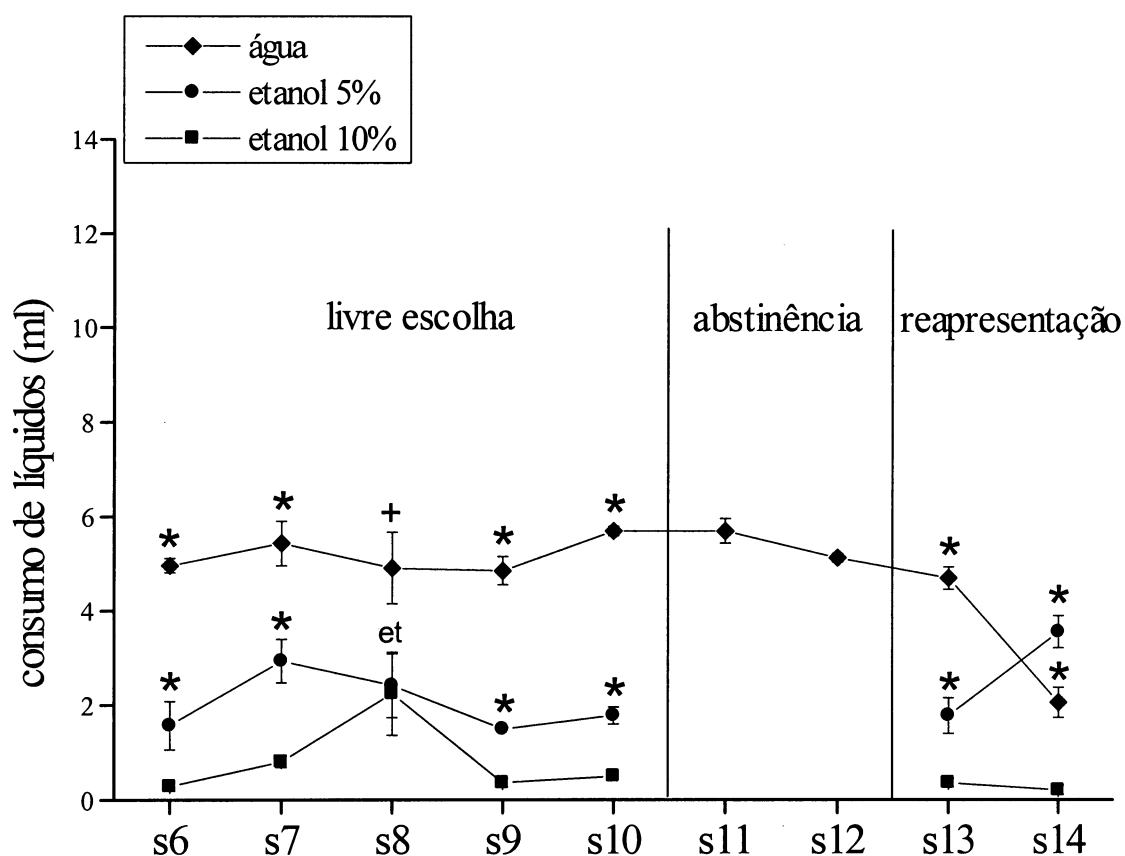


FIGURA 13: Consumo de etanol e água do animal G2. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (et) difere do consumo de etanol 10% nas demais semanas, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana (+) difere do consumo de etanol 5% na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

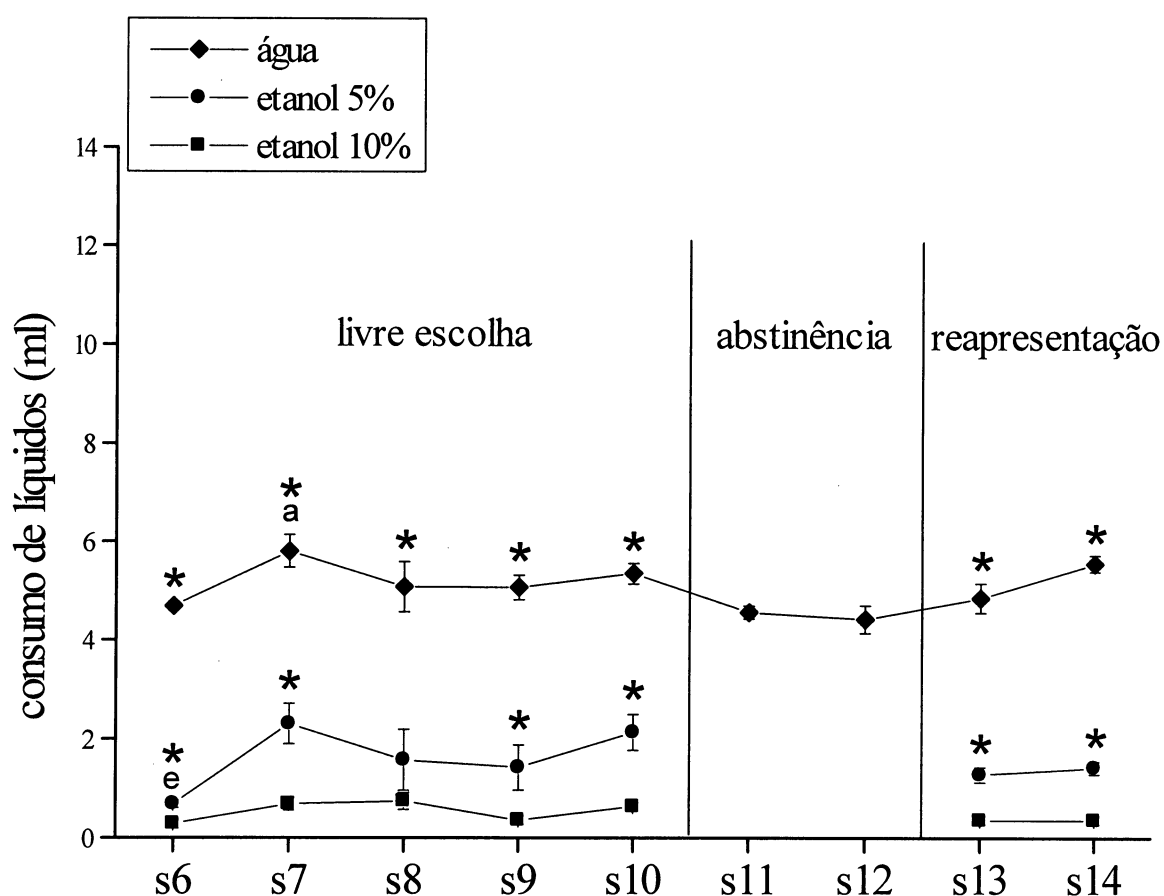


FIGURA 14: **Consumo de etanol e água do animal G4.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas semanas 11 e 12, (e) difere do consumo de etanol 5% na semana 7, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

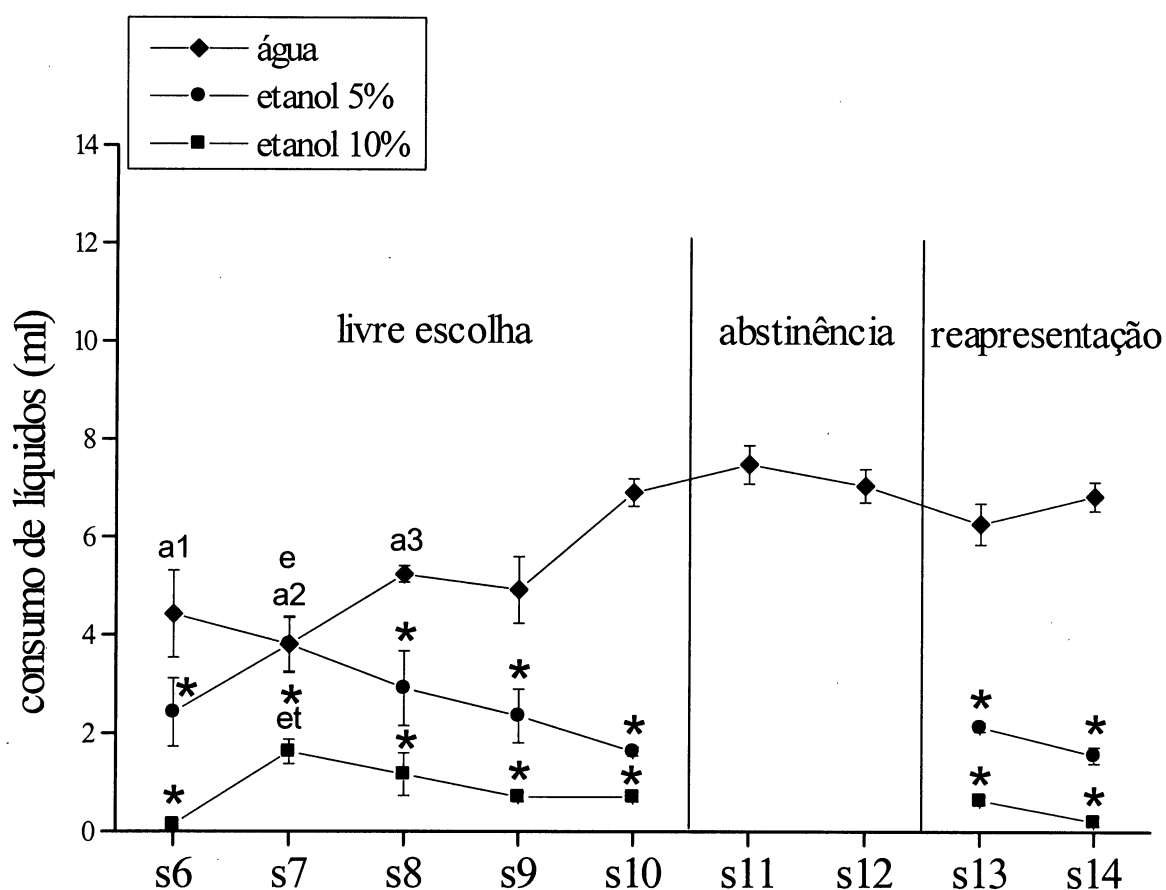


FIGURA 15: **Consumo de etanol e água do animal G12.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a1) difere do consumo de água nas semanas 10, 11, 12 e 14, (a2) difere do consumo de água nas semanas 10 e 14, (a3) difere do consumo de água nas semanas 11, 12 e 14, (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 10 e 14, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 6, 9, 10, 13 e 14, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

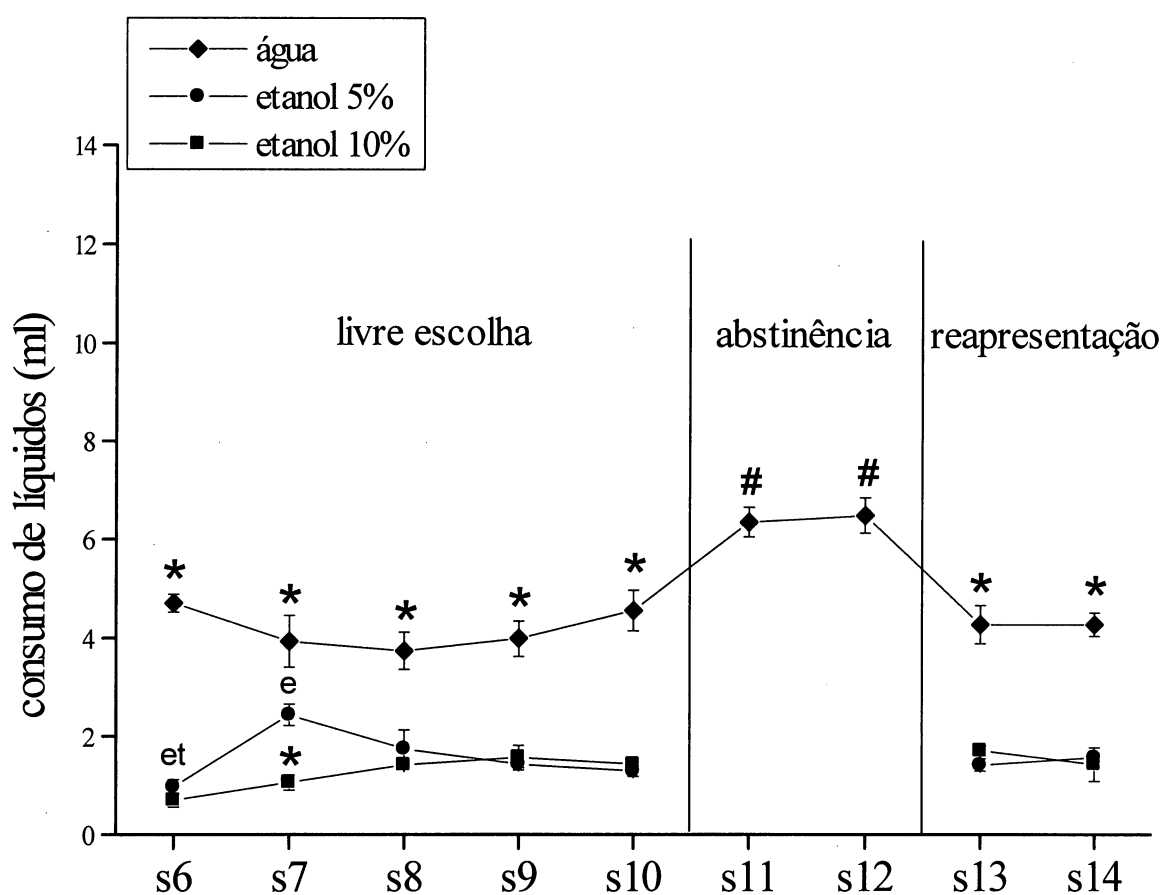


FIGURA 16: **Consumo de etanol e água do animal G13.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (e) difere do consumo de etanol 5% nas demais semanas, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 8, 9, 10 e 13, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

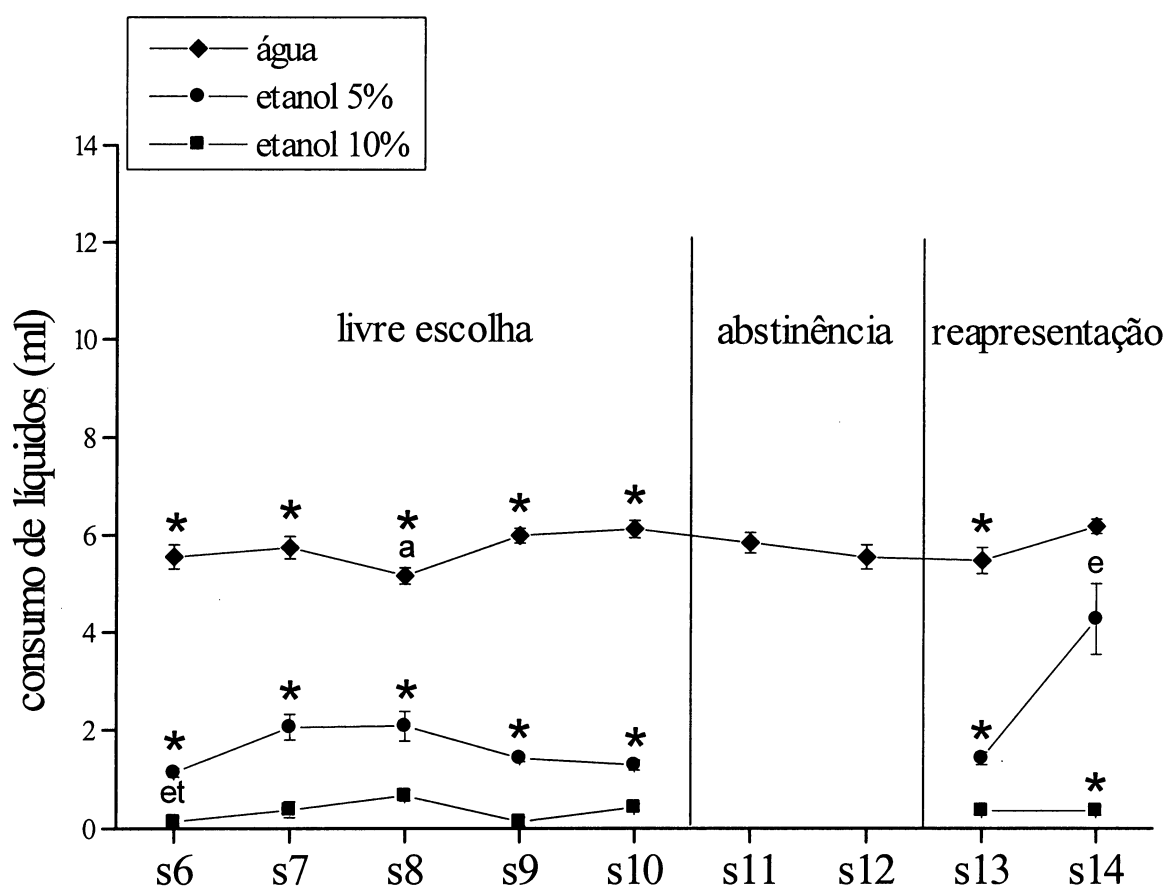


FIGURA 17: Consumo de etanol e água do animal G14. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas semanas 10 e 14, (e) difere do consumo de etanol 5% na semana 7, (et) difere do consumo de etanol 10% na semana 8, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 7 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO NÃO-SENSIBILIZADO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR PESADO

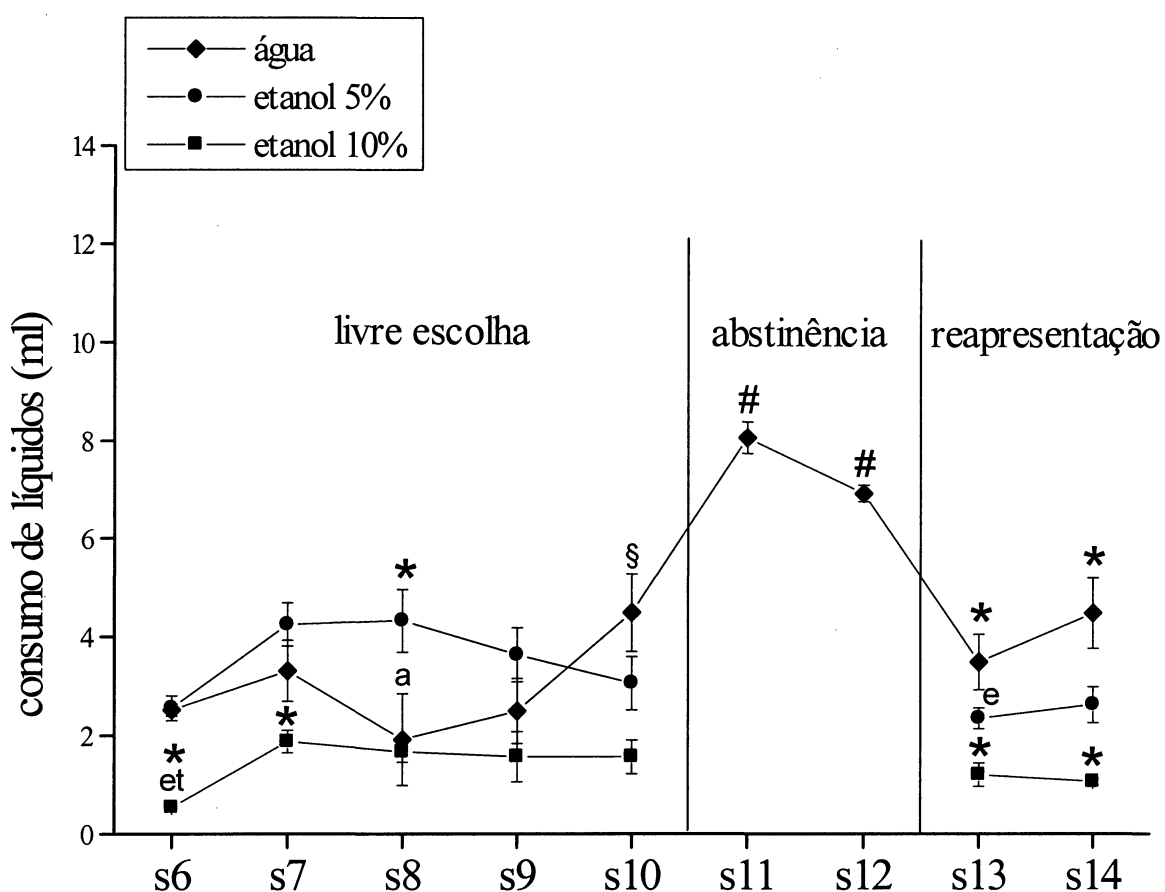


FIGURA 18: **Consumo de etanol e água do animal G3.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (a) difere do consumo de água nas semanas 10 e 14, (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 7 e 8, (et) difere do consumo de etanol 10% na semana 6, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana, (§) difere do consumo de etanol 10%. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

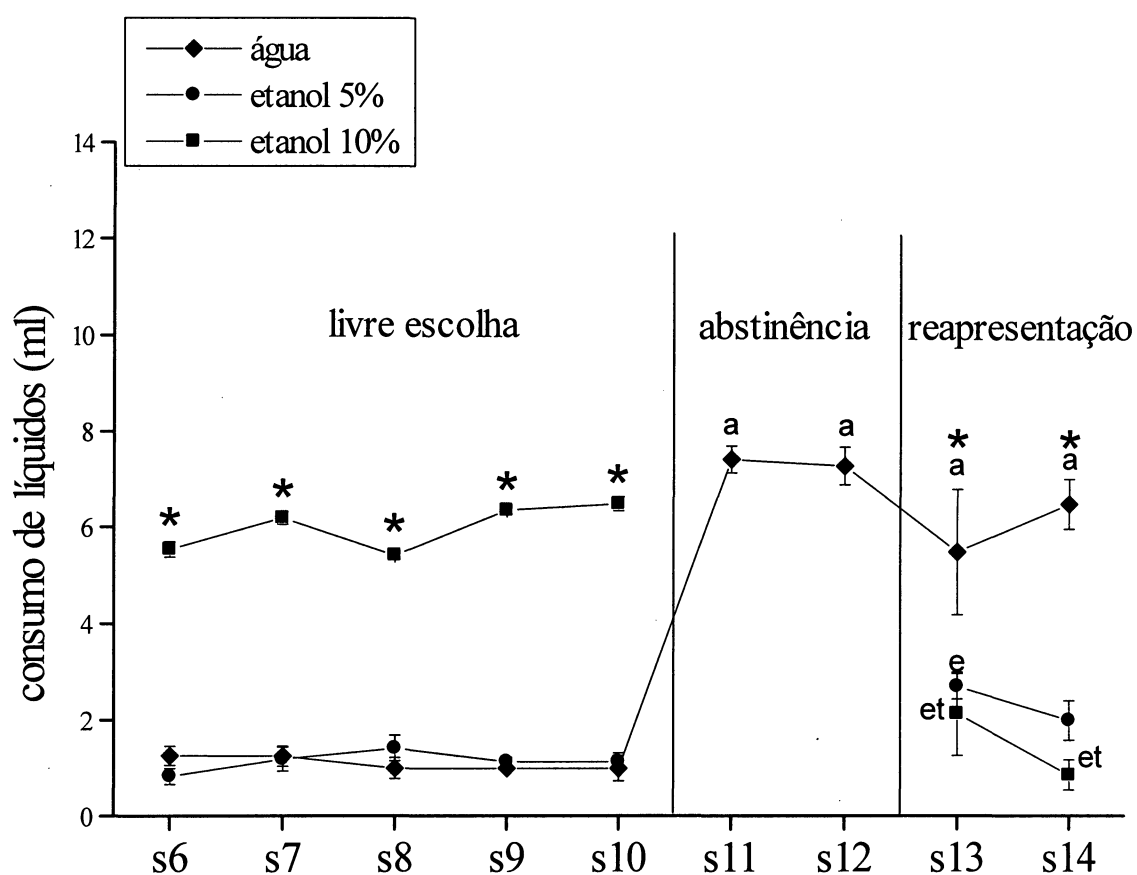


FIGURA 19: Consumo de etanol e água do animal G18. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas semanas 6, 7, 8, 9 e 10, (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 6, 7, 8, 9 e 10, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 6, 7, 8, 9 e 10, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 8 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO NÃO-SENSIBILIZADO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR COM RECAÍDA

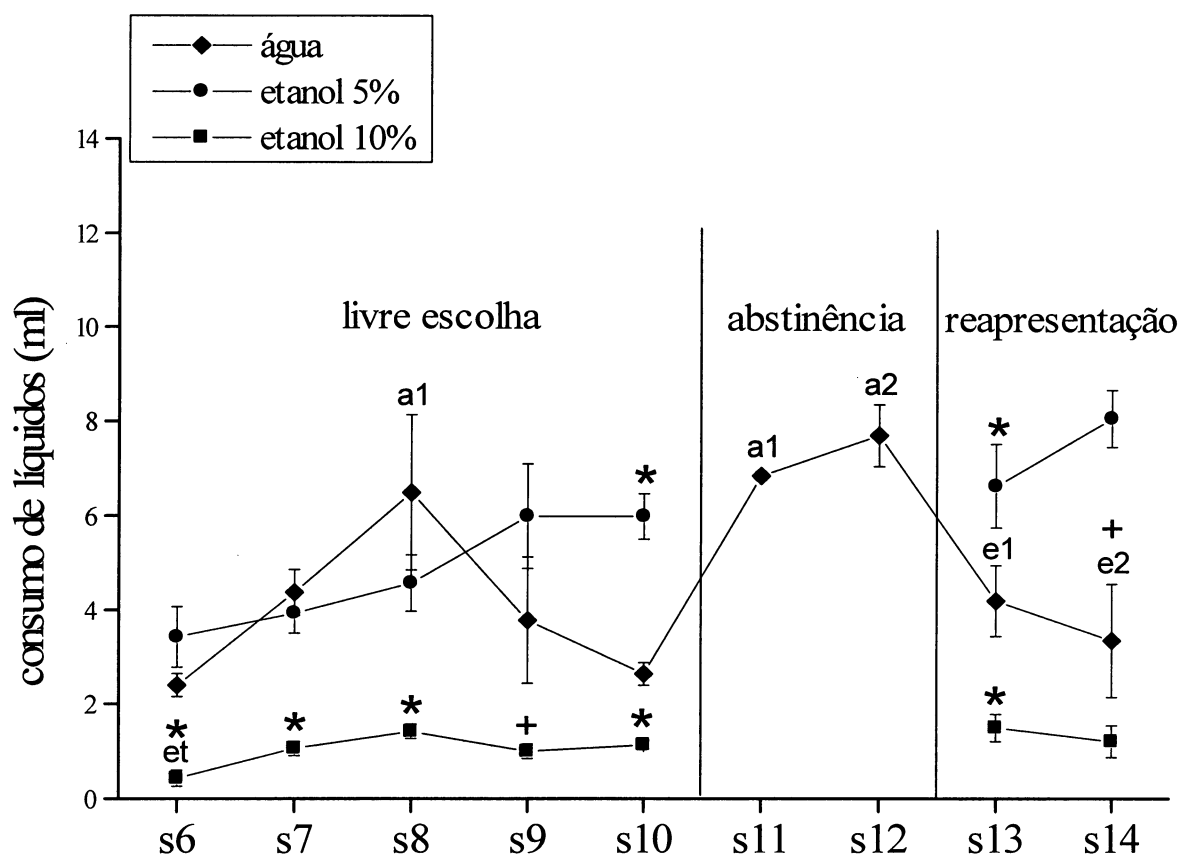


FIGURA 20: Consumo de etanol e água do animal G7. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a1) difere do consumo de água nas semanas 6 e 10, (a2) difere do consumo de água nas semanas 6, 7, 9, 10, 13 e 14, (e1) difere do consumo de etanol 5% na semana 6, (e2) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 6, 7 e 8 (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 8 e 13, (+) difere do consumo de etanol 5% na mesma semana, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 9 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO NÃO-SENSIBILIZADO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMO INDEFINIDO

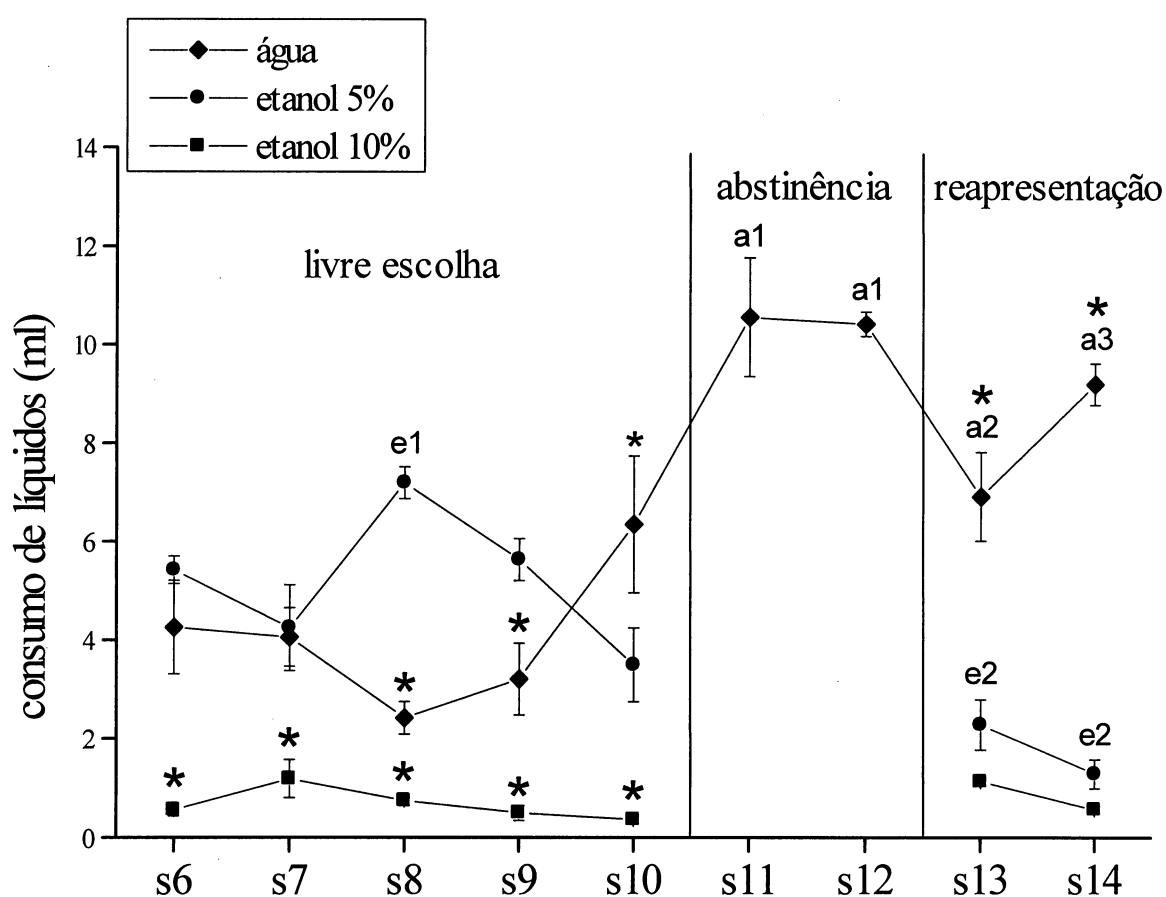


FIGURA 21: Consumo de etanol e água do animal G22. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a1) difere do consumo de água nas semanas 6, 7, 8, 9, 10 e 13, (a2) difere do consumo de água nas semanas 8 e 9, (a3) difere do consumo de água nas semanas 6, 7, 8 e 9, (e1) difere do consumo de etanol 5% em todas as demais semanas, (e2) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 6, 7, 8 e 9, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

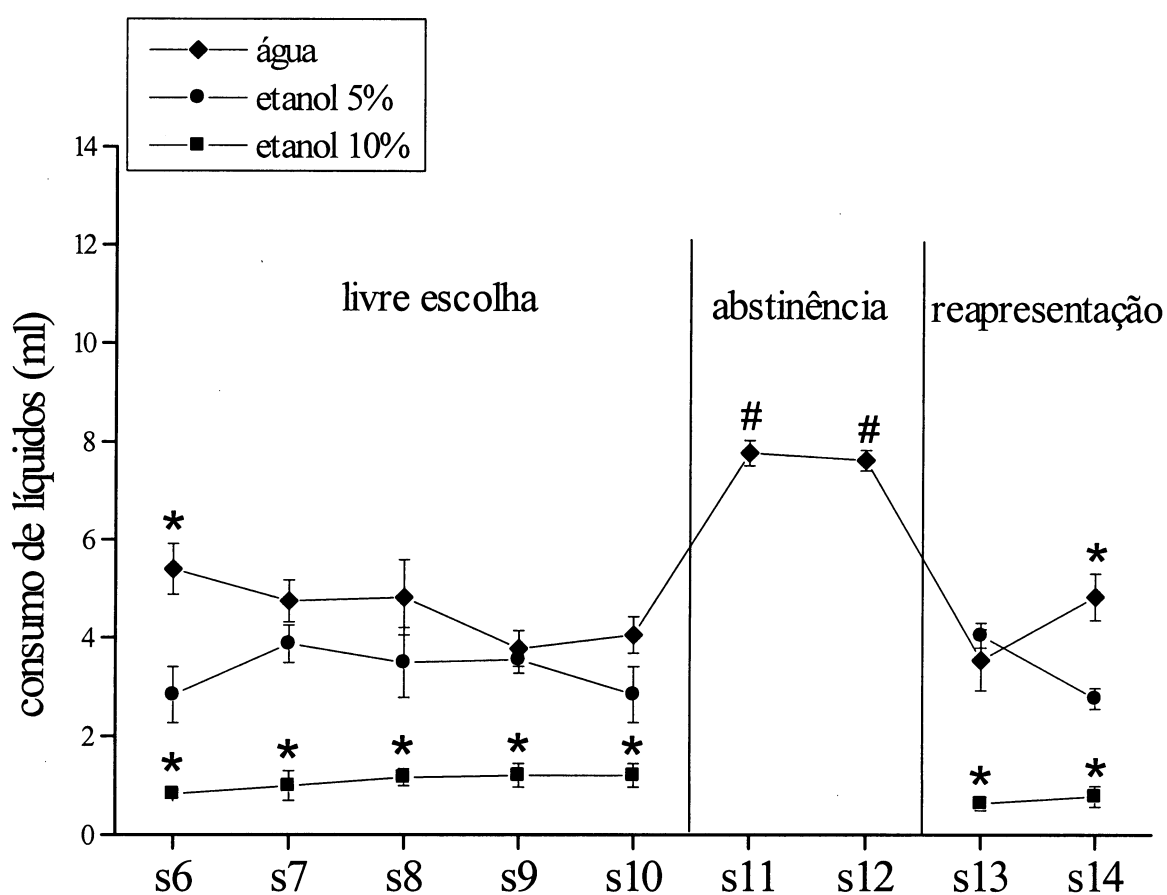


FIGURA 22: **Consumo de etanol e água do animal G23.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 10 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO SENSIBILIZADO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR LEVE

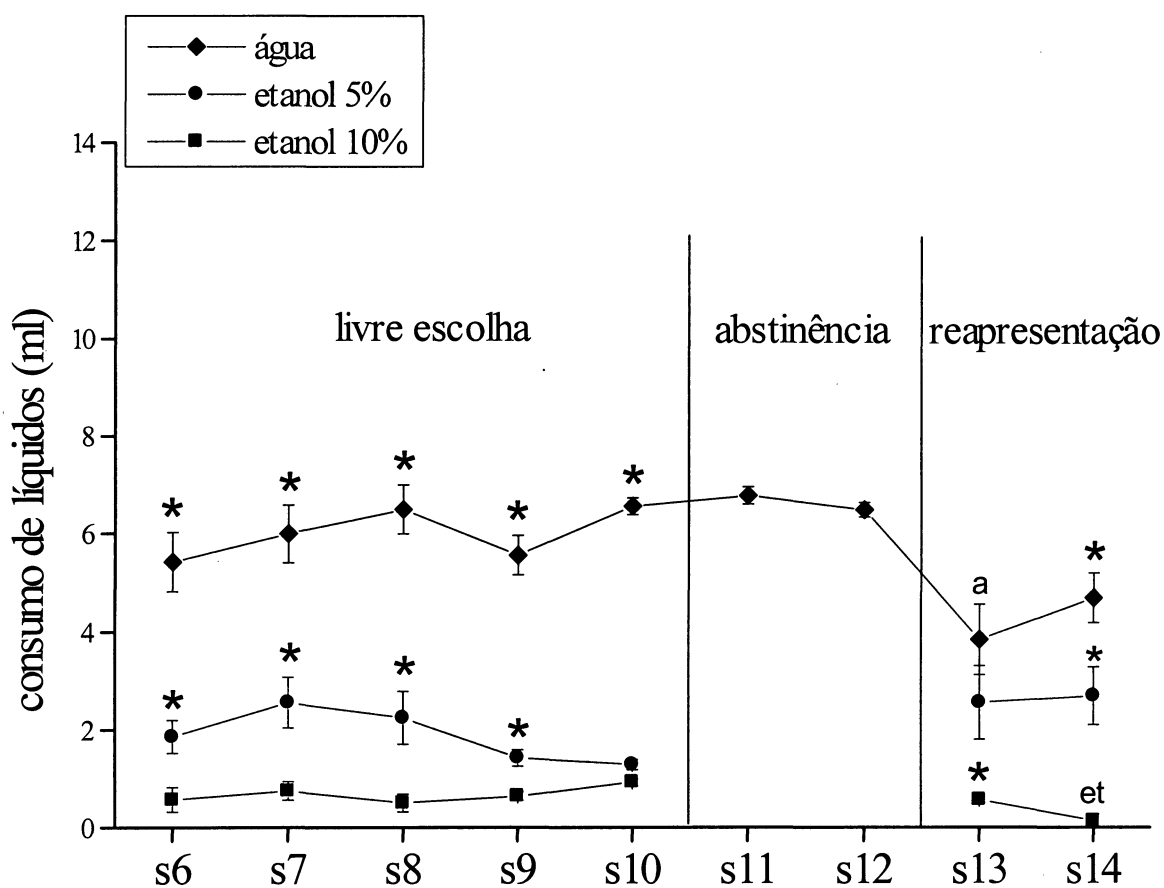


FIGURA 23: **Consumo de etanol e água do animal G6.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas semanas 7, 8, 10, 11 e 12, (et) difere do consumo de etanol 10% na semana 14, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

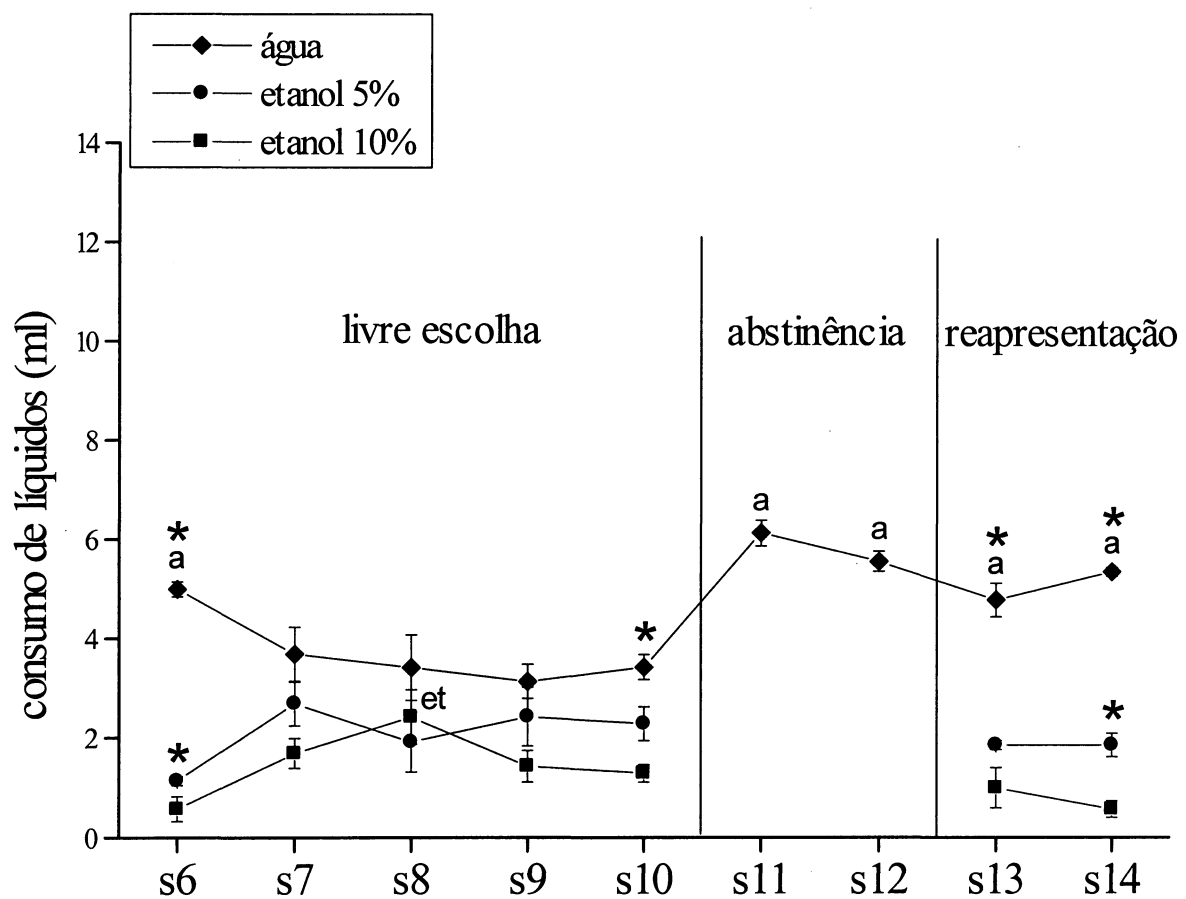


FIGURA 24: **Consumo de etanol e água do animal G19.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas semanas 7, 8, 9 e 10, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 6, 13 e 14, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

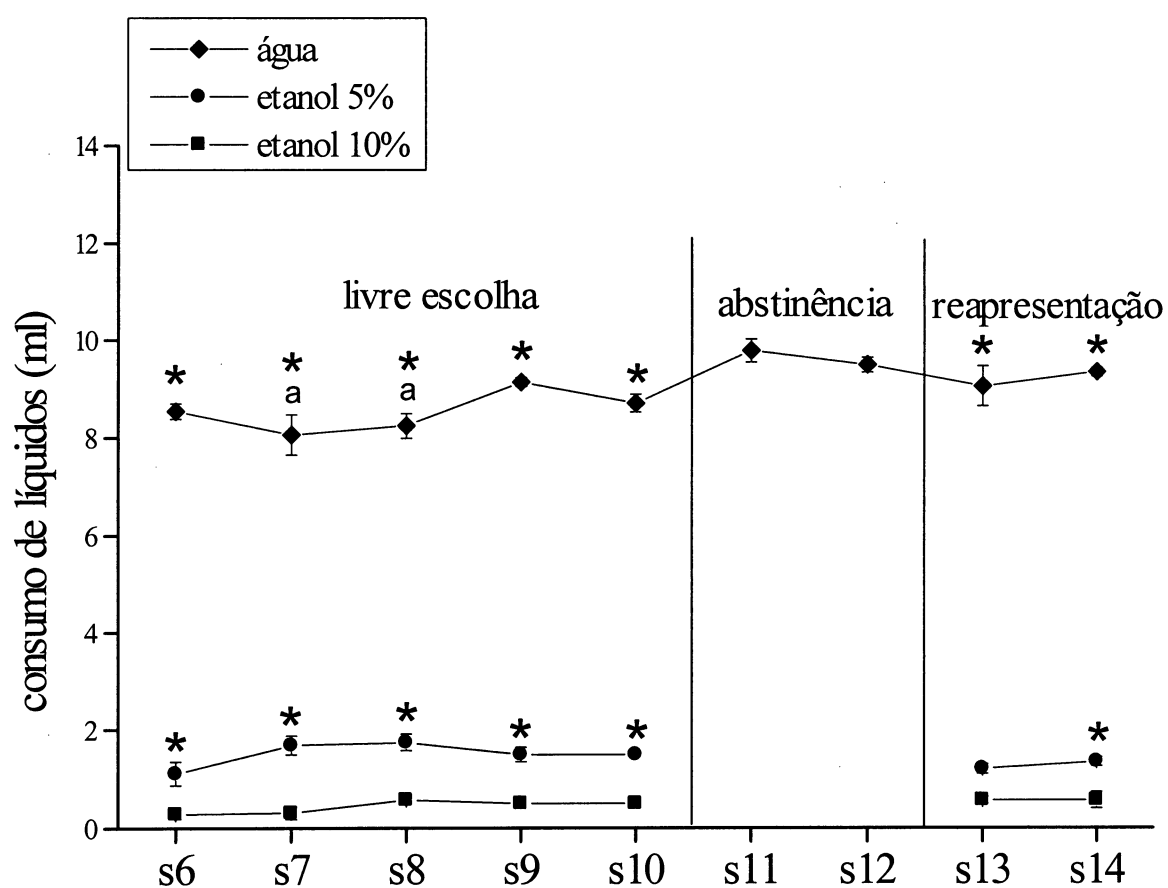


FIGURA 25: Consumo de etanol e água do animal G21. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas semanas 9, 11, 12 e 14, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

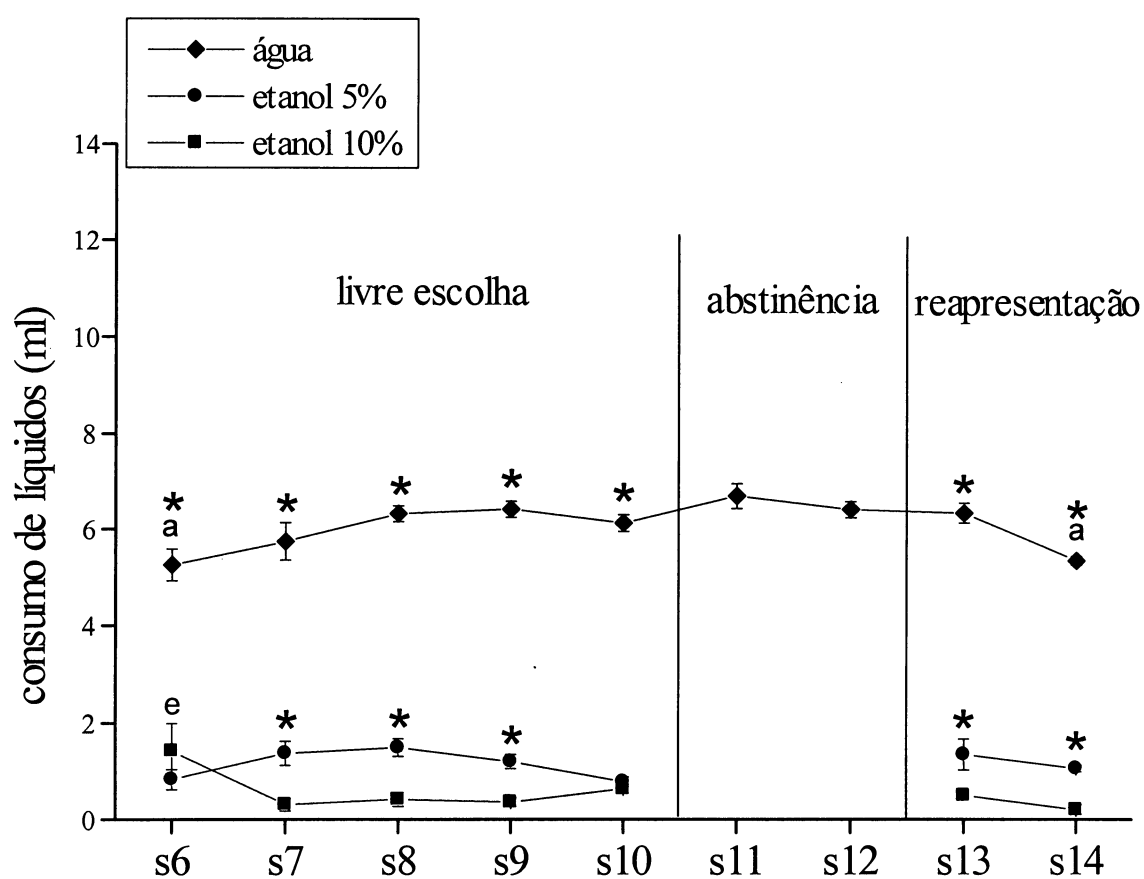


FIGURA 26: Consumo de etanol e água do animal G26. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (a) difere do consumo de água nas semanas 8, 9, 11 e 13, (e) difere do consumo de etanol 5% nas demais semanas, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 11 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO SENSIBILIZADO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR PESADO

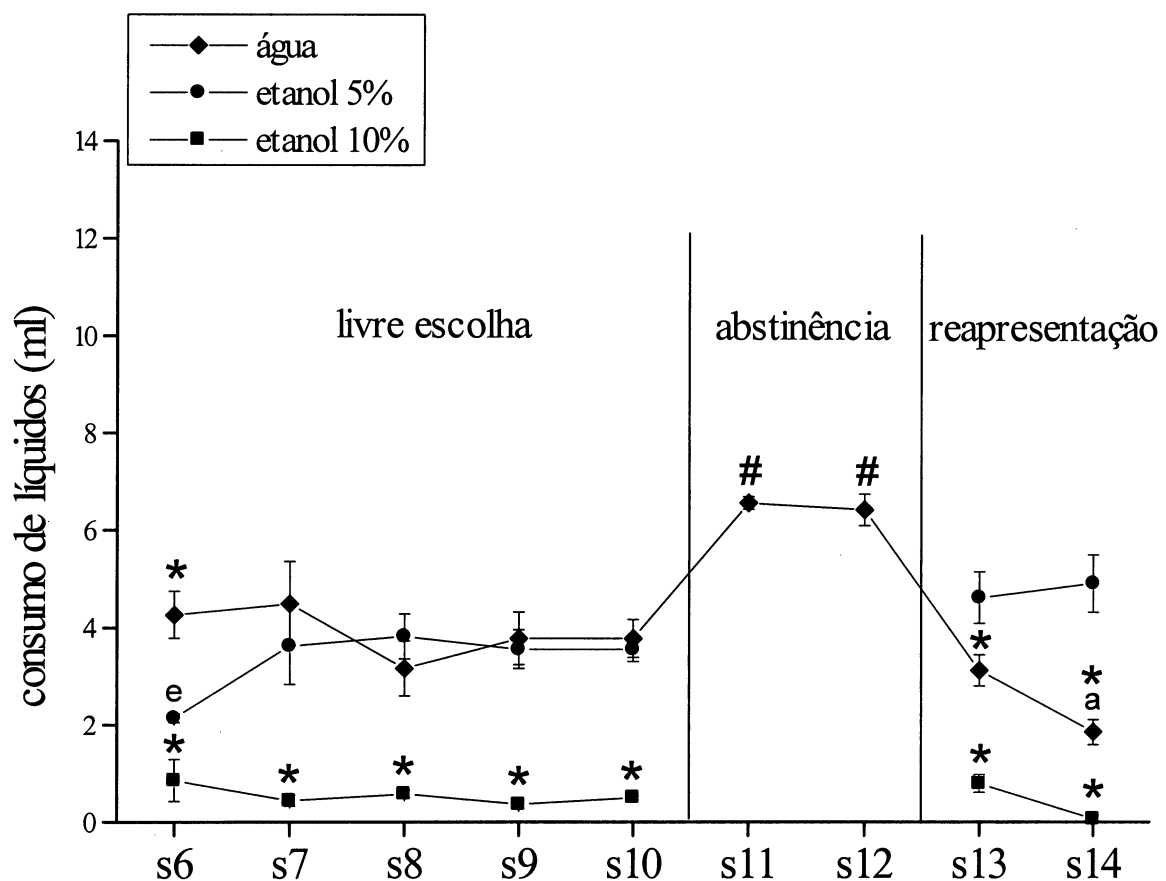


FIGURA 27: Consumo de etanol e água do animal G15. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (a) difere do consumo de água nas semanas 6, 7 e 9, (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 13 e 14, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

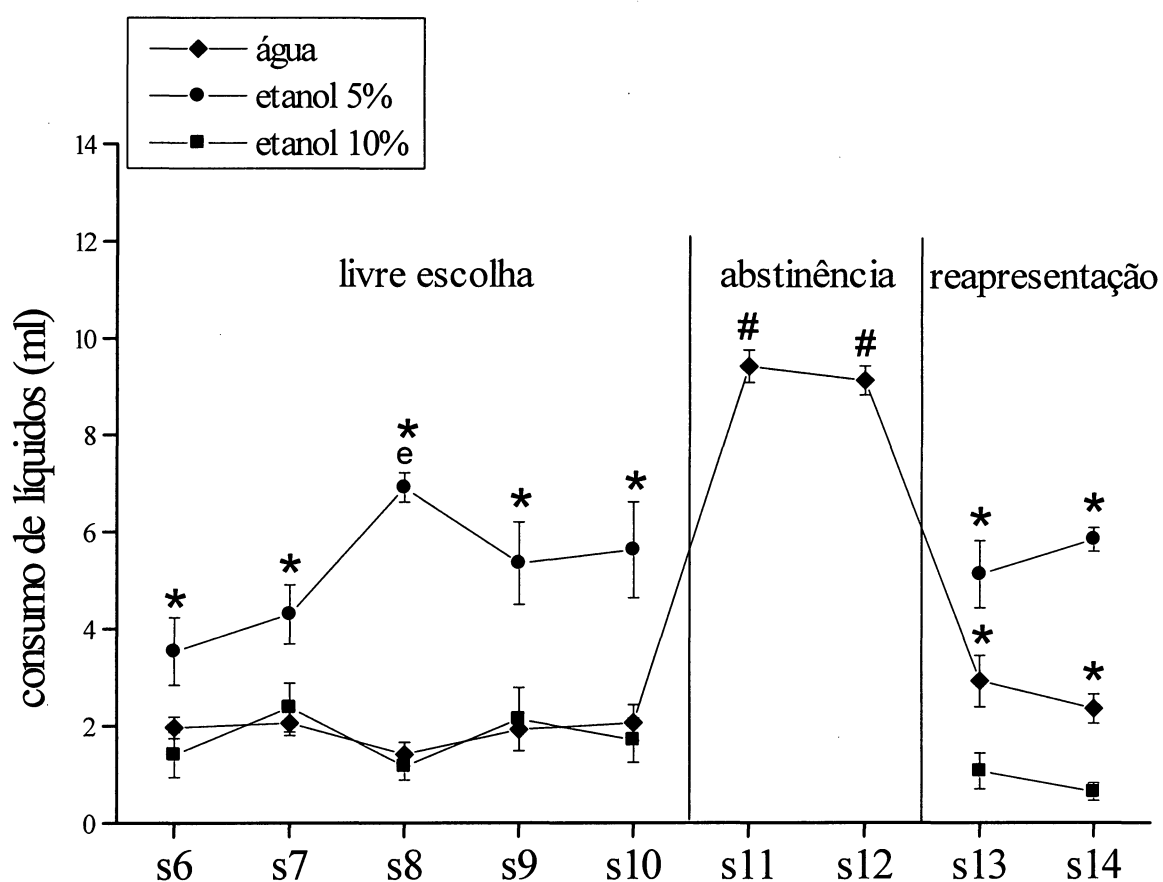


FIGURA 28: **Consumo de etanol e água do animal G16.** Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (e) difere do consumo de etanol 5% na semana 6, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

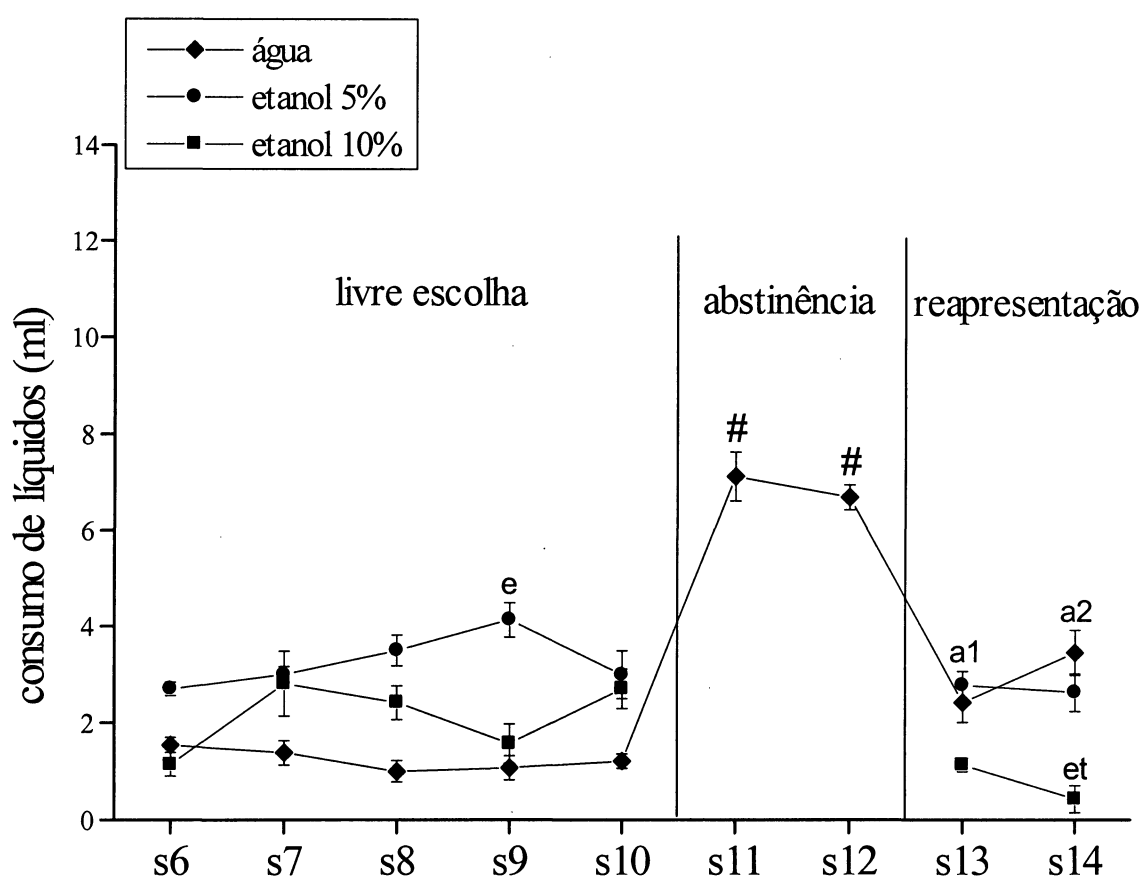


FIGURA 29: Consumo de etanol e água do animal G29. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (a1) difere do consumo de água nas semanas 8, 9, 11, 12 e 14, (a2) difere do consumo de água nas demais semanas, (e) difere do consumo de etanol 5% nas demais semanas, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 7 e 10, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

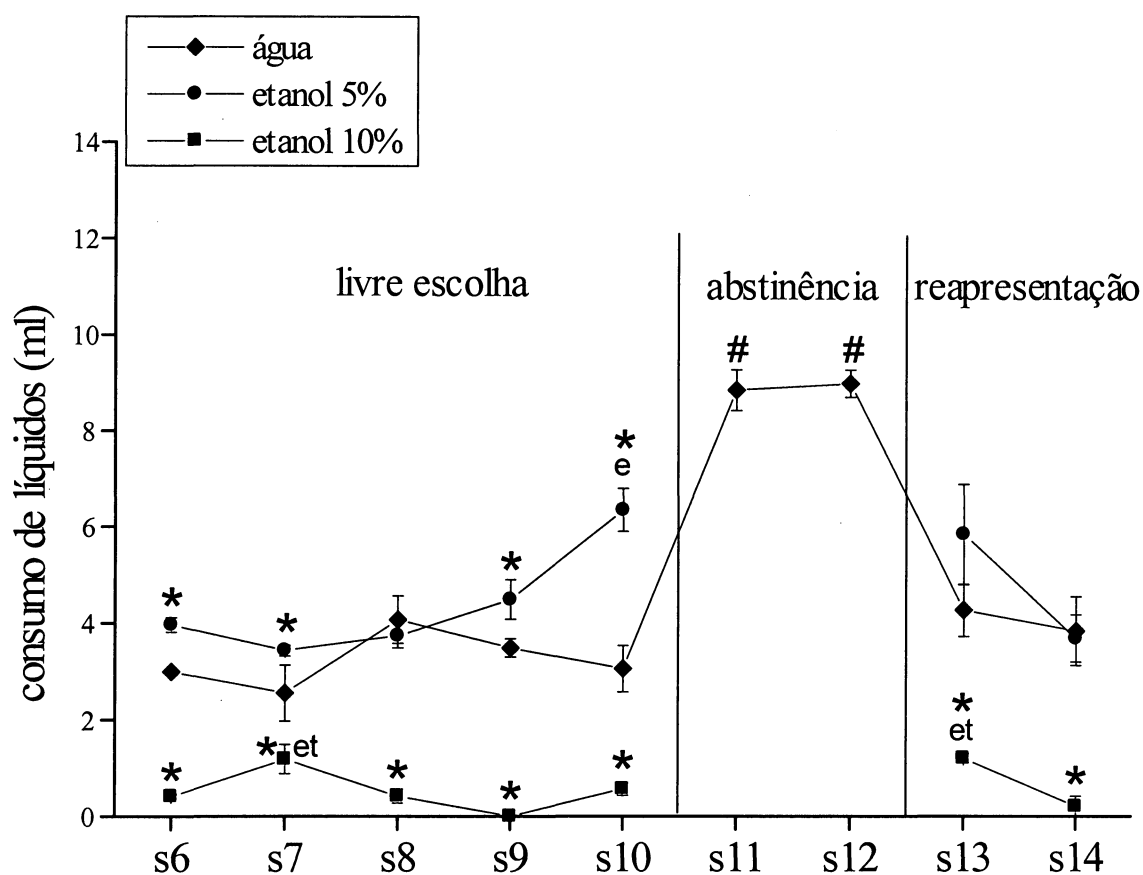


FIGURA 30: Consumo de etanol e água do animal G30. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 6, 7, 8 e 14, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 6, 8, 9 e 14, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 12 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO SENSIBILIZADO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMIDOR COM RECAÍDA

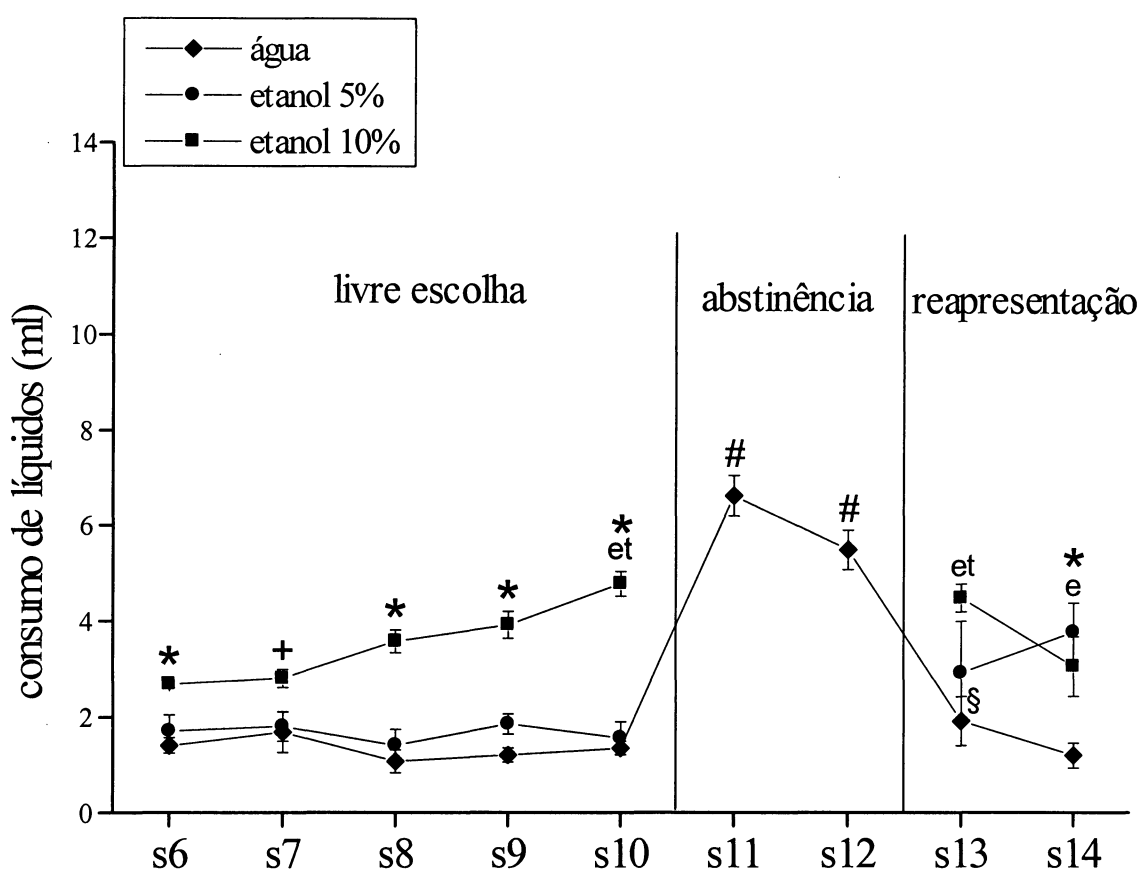


FIGURA 31: Consumo de etanol e água do animal G28. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (#) difere do consumo de água nas semanas das demais fases experimentais, (e) difere do consumo de etanol 5% nas semanas 8 e 9, (et) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 6, 7 e 14, (+) difere do consumo de etanol 5% na mesma semana, (§) difere do consumo de etanol 10% na mesma semana, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).

APÊNDICE 13 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA AO LONGO DO MODELO DE AUTO-ADMINISTRAÇÃO PARA OS ANIMAIS PREVIAMENTE CLASSIFICADOS COMO SENSIBILIZADO QUE APRESENTARAM PADRÃO DE CONSUMO INDEFINIDO

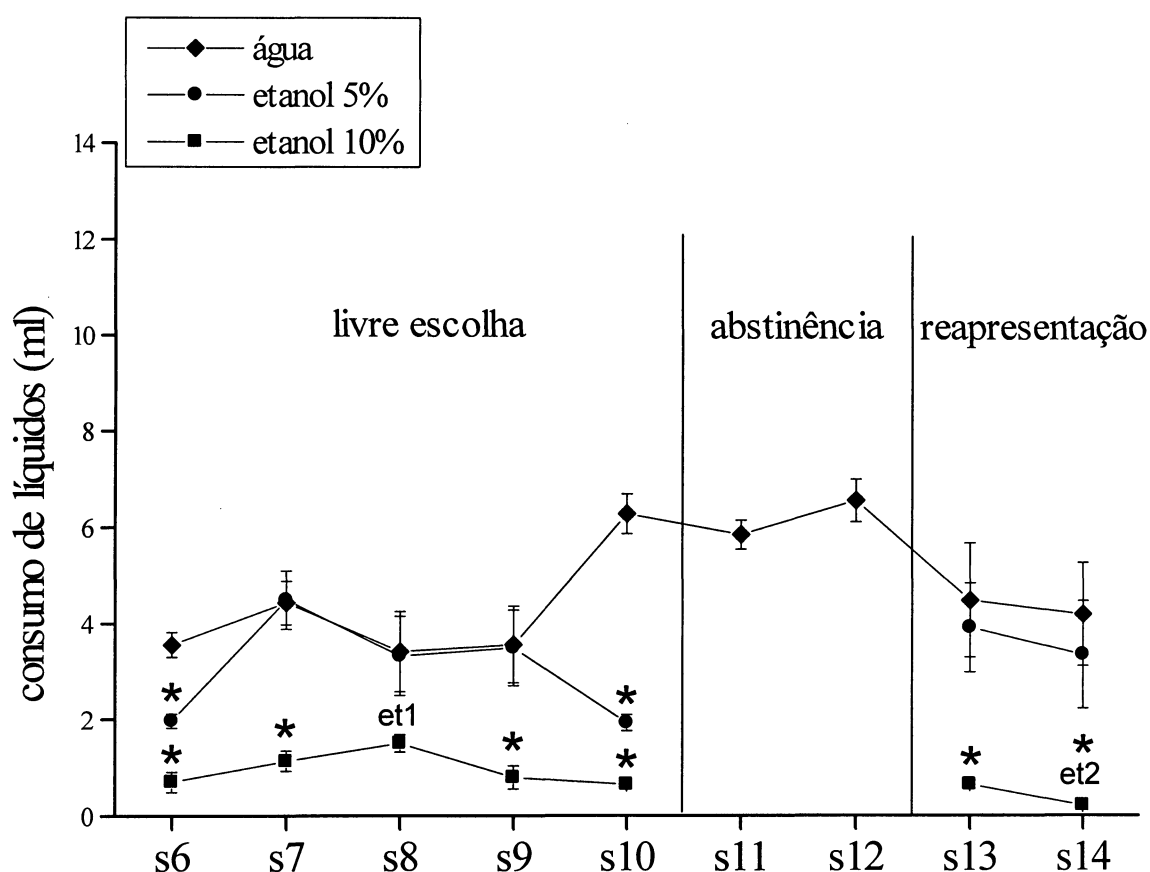


FIGURA 32: Consumo de etanol e água do animal G9. Média $\pm$ erro padrão semanal do consumo diário das três soluções oferecidas (ml) nas fases de livre escolha, de abstinência e de reapresentação do modelo de auto-administração. Símbolos representam: (et1) difere do consumo de etanol 10% nas semanas 6 e 9, 10, 13 e 14, (et2) difere do consumo de etanol 10% na semana 14, (*) difere do consumo dos demais líquidos na mesma semana. ANOVA, Newmann-Keuls ($p \leq 0,05$, pelo menos).