

ANDREA FROZINO RIBEIRO

**RELAÇÃO ENTRE O DESENVOLVIMENTO DE DEPENDÊNCIA DE ETANOL E
SENSIBILIZAÇÃO PSICOMOTORA EM UM MODELO ANIMAL**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Farmacologia, Curso
de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Roseli Boerngen de
Lacerda

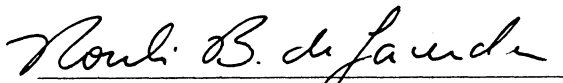
CURITIBA


2004



PARECER

A Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado “**RELAÇÃO ENTRE O DESENVOLVIMENTO DE DEPENDÊNCIA DE ETANOL E SENSIBILIZAÇÃO PSICOMOTORA EM UM MODELO ANIMAL**”, de autoria da Pós-Graduanda **ANDREA FROZINO RIBEIRO**, e composta pelos Professores Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda (como orientadora e Presidente); Dr^a. Vilma Aparecida da Silva (UFF), Dr. Hidevaldo Bueno Machado (UFPR). De acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a Pós-Graduanda foi APROVADO. Para a devida publicação o trabalho deve sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas pela orientadora. Em Curitiba, 27 de fevereiro de 2004.


Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda.

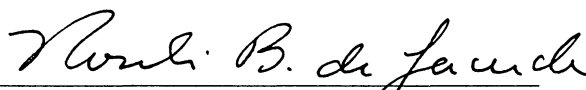

Dr^a. Vilma Aparecida da Silva


Dr. Hidevaldo Bueno Machado



1 **ATA DO JULGAMENTO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

2 Ao vigésimo sétimo dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e quatro, às 09:30 horas,
3 no anfiteatro 07 (sete) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do
4 Paraná, reuniu-se a Comissão Examinadora de Dissertação de Mestrado de autoria da
5 Pós-Graduanda em Farmacologia, **ANDREA FROZINO RIBEIRO**, intitulada:
6 “Relação entre o Desenvolvimento de Dependência de Etanol e Sensibilização
7 Psicomotora em um Modelo Animal”, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Roseli Boerngen de
8 Lacerda, e composta pelos professores: Dr^a. Vilma Aparecida da Silva (UFF), e Dr.
9 Hidevaldo Bueno Machado (UFPR). A Banca Examinadora iniciou os trabalhos. A
10 candidata teve quarenta e cinco minutos para expor oralmente seu trabalho, sendo em
11 seguida argüida durante quinze minutos por cada um dos membros da Banca, e tendo
12 trinta minutos para responder a cada uma das argüições. No final a Comissão
13 Examinadora emitiu o seguinte parecer: APROVADA. De acordo
14 com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a Pós-
15 Graduanda foi APROVADA. Para a publicação o trabalho deverá
16 sofrer as modificações sugeridas, que será conferida por sua orientadora. Nada mais
17 havendo a tratar, a Presidente deu por encerrada a sessão, da qual foi lavrada a presente
18 ata, que será assinada pela Presidente e pelos demais Membros da Banca Examinadora,
19 em Curitiba, 27 de fevereiro de 2004.



Dr^a. Roseli Boerngen de Lacerda



Dr^a. Vilma Aparecida da Silva



Dr. Hidevaldo Bueno Machado

A Deus

...Quem pode separar sua fé de suas ações, ou sua crença de seus afazeres?

Quem pode espalhar suas horas perante si, dizendo: "Esta é para Deus, e essa é para mim; esta é para minha alma, e essa é para meu corpo?"

Vossa vida cotidiana é vosso templo e vossa religião.

Gibran Khalil Gibran

1883 - 1931

Aos professores, técnicos, todos que de certa forma contribuíram para o aprimoramento do Curso de Mestrado em Farmacologia e em especial para a professora, orientadora e amiga Dra. Roseli Boerngen de Lacerda

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais volta ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

1879 - 1955

À Família

“A Família é a Pátria do coração. Há um anjo na Família que, com uma misteriosa influência de graças, doçura e amor, torna o cumprimento dos deveres menos árido, e os sofrimentos menos amargos. As únicas alegrias puras e isentas de tristeza que ao homem é dado gozar na Terra são, mercê desse Anjo, as alegrias da Família. Quem, por fatalidade de circunstâncias, não pôde viver sob as asas desse Anjo, a vida serena da família, tem uma sombra de melancolia estendida sobre a alma, um vazio que nada enche no coração... . Bendizei a Deus, que criou esse Anjo, ó vós que tendes as alegrias e as consolações da Família.”

Giuseppe Mazzini

1805 - 1872

Ao Amor

*Grande amor, grande amor, grande mistério
Que as nossas almas trêmulas enlaça...
Céu que nos beija, céu que nos abraça
Num abismo de luz profundo e sério.*

*Eterno espasmo de um desejo etéreo
E bálsamo dos bálsamos da graça,
Chama secreta que nas almas passa
E deixa nelas um clarão sidéreo.*

*Cântico de anjos e de arcanjos vagos
Junto às águas sonâmbulas de lagos,
Sob as claras estrelas desprendido...*

*Selo perpétuo, puro e peregrino
Que prende as almas num igual destino,
Num beijo fecundado num gemido.*

Cruz e Souza

1861 - 1898

Aos Amigos

“A amizade é uma suma harmonia nas coisas divinas e humanas, com benevolência e amor.”

Marcus Tullius Cícero

106 a.C. – 43 a.C.

A todos

“Havia num bosque isolado uma bonita violeta que vivia satisfeita com suas companheiras. Certa manhã, ergueu a cabeça, e viu uma rosa que se balançava acima dela, radiante e orgulhosa.

Gemeu a violeta, dizendo: ‘Pouca sorte tenho eu entre as flores! Humilde é meu destino! Vivo colada à terra, e não posso erguer a face para o sol, como fazem as rosas...’

A Natureza ouviu, e disse: ‘Que te aconteceu, filhinha? As vãs ambições apoderaram-se de ti?’

Suplico-te, ó Mãe Poderosa, disse a violeta, transforma-me numa rosa, por um dia só que seja.

Não sabes o que estás pedindo, respondeu a Natureza. Ignoras o que se esconde de infortúnios atrás das aparentes grandezas.

Transforma-me em rosa, insistiu a violeta, e aceitarei as conseqüências de minhas aspirações e desejos.

A Natureza estendeu sua mão mágica, e a violeta tornou-se uma rosa suntuosa. Na tarde daquele mesmo dia, o céu escureceu, e o vento e a chuva devastaram o bosque. As árvores e as roseiras foram abatidas. Só as humildes violetas escaparam ao massacre. E uma delas, olhando à sua volta, gritou às companheiras: Olhem e vejam o que a tempestade fez das grandes plantas que se elevam com orgulho e impertinência!

Disse uma outra: 'Vivemos coladas à terra, mas escapamos à fúria dos furacões.'

Uma terceira disse: 'Somos pequenas e humildes; mas as tempestades nada podem contra nós.'

A Rainha das violetas viu também a rosa que tinha sido violeta, estendida por terra como morta. E disse: 'Vejam e meditem, minhas filhas, sobre o destino da violeta que as ambições embriagaram. Que sua infelicidade lhes sirva de exemplo.'

Ouvindo estas palavras, a rosa agonizante agitou-se, e disse, com voz entrecortada:

Escutai, antes, vós, ignorantes, medíocres, covardes. Ontem, eu era como vós, humilde e satisfeita. Mas a satisfação que me protegia, também me limitava. Podia continuar a viver como vós, colada à terra, até que o inverno me envolvesse na sua neve e me levasse ao silêncio eterno, sem que conhecesse dos segredos e glórias desta vida mais do que as inúmeras gerações de violetas, desde que existem violetas.

Mas escutei no silêncio da noite, e ouvi o mundo superior dizer a este mundo: O alvo da vida é alcançar o que há além da vida. Pedi, então, à Natureza – que nada é senão a materialização de nossos sonhos invisíveis – que me transformasse em rosa. E a Natureza atendeu ao meu desejo.

Vivi uma hora como rosa. Vivi uma hora como rainha. Vi o mundo com os olhos das rosas. Ouvi a melodia do éter com os ouvidos das rosas. Acaricieei a luz com as pétalas das rosas. Pode alguma de vós gabar-se desta honra?

Morro agora, levando na alma o que nenhuma violeta jamais experimentara. Morro, sabendo o que há por trás dos horizontes estreitos onde nasci. É este o alvo da vida."

Gibran Khalil Gibran

1883 – 1931

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	xii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1 INTRODUÇÃO	01
1.1 BREVE HISTÓRICO DO USO DE ETANOL	01
1.2 EFEITOS FARMACOLÓGICOS	03
1.3 NEUROBIOLOGIA DE DEPENDÊNCIA	08
1.4 MODELOS ANIMAIS DE DEPENDÊNCIA	11
1.5 SENSIBILIZAÇÃO E DEPENDÊNCIA	15
2 OBJETIVOS	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 ANIMAIS	21
3.2 DROGAS	21
3.3 MATERIAL	22
3.3.1 Aparelhos e Procedimentos	22
3.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	24
3.4.1 Experimento 1: Avaliação da aversividade ao sabor de quinina	24
3.4.2 Experimento 2: Modelo de dependência por livre escolha	24
3.4.3 Experimento 3: Avaliação Comportamental Basal	24
3.4.4 Experimento 4: Avaliação Comportamental na Abstinência	25
3.4.5 Experimento 5: Avaliação da expressão de sensibilização ao efeito estimulante agudo de etanol	25
3.5 CÁLCULO DA QUANTIDADE DE ETANOL INGERIDO	26
3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	26
4 RESULTADOS	28
4.1 EXPERIMENTO 1: AVALIAÇÃO DA AVERSIVIDADE AO SABOR DE QUININA	28
4.2 EXPERIMENTO 2: MODELO DE DEPENDÊNCIA POR LIVRE ESCOLHA	29
4.2.1 Padrão Geral de Consumo	29

4.2.2 Padrão Individual de Consumo	31
4.2.3 Padrão de Consumo no Grupo	70
4.3 EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL BASAL	79
4.4 EXPERIMENTO 4: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL NA ABSTINÊNCIA	79
4.5 EXPERIMENTO 5: AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE SENSIBILIZAÇÃO AO EFEITO ESTIMULANTE AGUDO DE ETANOL	80
5 DISCUSSÃO	84
6 CONCLUSÃO	95
REFERÊNCIAS	96
REFERÊNCIAS RECOMENDADAS	106
APÊNDICE 1 – AVALIAÇÃO DA AVERSIVIDADE AO SABOR DE QUININA	107
APÊNDICE 2 – ANÁLISE DOS PESOS POR GRUPO	108
APÊNDICE 3 – ANÁLISES COMPORTAMENTAIS I	109
APÊNDICE 4 – ANÁLISES COMPORTAMENTAIS II	117

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

GRÁFICO 1 – COMPARAÇÃO ENTRE CONSUMO DE ÁGUA E QUININA	29
GRÁFICO 2 - CONSUMO DE ETANOL TOTAL (ML) POR GRUPO	71
GRÁFICO 3 – CONSUMO DE ETANOL (G/KG) POR GRUPO	72
GRÁFICO 4 – CONSUMO DE ETANOL 5% (ML) POR GRUPO	73
GRÁFICO 5 – CONSUMO DE ETANOL 10% (ML) POR GRUPO	74
GRÁFICO 6 – CONSUMO DE ÁGUA (ML) POR GRUPO	75
GRÁFICO 7 – PREFERÊNCIA ENTRE ÁGUA E ETANOL POR GRUPO	76
GRÁFICO 8 – REPRESENTAÇÃO INDIVIDUAL DA AMBULAÇÃO MEDIDA NA CAIXA DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA	83
FIGURA 1 – CORRELAÇÃO ENTRE OS CONSUMOS NAS DIFERENTES FASES DE TRATAMENTO	30
FIGURA 2 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 07	35
FIGURA 3 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 14	36
FIGURA 4 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 25	37
FIGURA 5 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 28	38
FIGURA 6 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 29	39
FIGURA 7 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 30	40
FIGURA 8 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 02	46
FIGURA 9 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 06	47
FIGURA 10 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 08	48
FIGURA 11 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 09	49
FIGURA 12 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 10	50
FIGURA 13 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 13	51
FIGURA 14 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 15	52
FIGURA 15 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 16	53
FIGURA 16 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 17	54
FIGURA 17 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 18	55
FIGURA 18 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 27	56
FIGURA 19 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 03	60

FIGURA 20 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 04	61
FIGURA 21 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 11	62
FIGURA 22 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 19	63
FIGURA 23 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 20	64
FIGURA 24 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 23	65
FIGURA 25 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 24	66
FIGURA 26 – CONSUMO DOS CAMUNDONGOS 31, 32, 33 e 34	68
FIGURA 27 – CONSUMO DOS CAMUNDONGOS 35, 36, 37, 38, 39 e 40	69
FIGURA 28 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA DOS GRUPOS	78
FIGURA 29 – CORRELAÇÃO ENTRE AMBULAÇÃO E CONSUMO	82
TABELA 1 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	107
TABELA 2 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS NÃO PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	109
TABELA 3 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO CAMPO ABERTO	110
TABELA 4 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS NÃO PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO CAMPO ABERTO	111
TABELA 5 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS PARAMÉTRICAS MEDIDAS NA CAIXA DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA	112
TABELA 6 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS NÃO PARAMÉTRICAS MEDIDAS NA CAIXA DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA	113

RESUMO

A Teoria da Sensibilização preconiza que o aumento do efeito estimulante do etanol está associado à predisposição do indivíduo a se tornar dependente. Com base nisso, desenvolveu-se um modelo animal para dependência de etanol e a atividade locomotora foi avaliada para verificar se ocorreu sensibilização ao efeito estimulante do etanol. Um grupo de camundongos (n=30) foi exposto a um paradigma de livre escolha entre soluções etílicas (5% e 10%) e água, que consistia em um tratamento dividido em quatro fases: livre escolha (12 semanas), abstinência (2 semanas), reapresentação (2 semanas) e adulteração (3 semanas), enquanto que outro grupo tinha acesso apenas à água (grupo controle, n=10) durante todas as semanas. Foram alojados individualmente, e receberam ração à vontade. Tiveram o comportamento avaliado nos aparelhos labirinto em cruz elevado, campo aberto e caixa de movimentação espontânea, antes do início do tratamento, durante a abstinência e 24h após o término do tratamento sob efeito de administração aguda de etanol (2g/kg) ou salina 0,9% no grupo controle. Posteriormente, com base no consumo individual de etanol (g/kg), os camundongos foram divididos em 3 grupos: consumidores “dependentes” (n= 6), os que apresentaram preferência pelas soluções etílicas, alto consumo de etanol sem redução na fase de adulteração; consumidores não dependentes “pesados” (n= 11) os que apresentaram preferência pelas soluções etílicas, alto consumo de etanol com redução após a fase de abstinência ou durante a fase de adulteração; e consumidores não dependentes “leve” (n= 7) os que apresentaram preferência pela água, baixo consumo de etanol com redução ou sem alterações durante as fases experimentais. O grupo de “dependentes” apresentou um perfil relacionado ao comportamento compulsivo pela droga manifestado pelo consumo continuado mesmo em condições aversivas. Além disso, esses animais apresentaram um tempo maior de permanência no centro do labirinto em cruz elevado na avaliação anterior ao tratamento de livre escolha sugerindo a presença de um possível traço de “ansiedade” que poderia ter contribuído para o comportamento de procura ao etanol. Esse grupo também apresentou diminuição da ambulação durante o período de abstinência ao etanol sugerindo também a presença de “ansiedade” quer seja “traço” compatível com seu perfil apresentado inicialmente, quer seja “estado” em resposta à retirada do etanol podendo representar uma manifestação da síndrome de abstinência. Não houve correlação entre o consumo de etanol pelos animais e a ambulação avaliada sob efeito de etanol administrado agudamente. Apesar do grupo com perfil de não dependente com consumo “pesado” apresentar a maior atividade locomotora quando comparado com o grupo controle e ao seu próprio valor basal, não houve diferença entre os grupos em relação à proporção de animais que se mostraram sensibilizados, levantando a hipótese de que talvez os mecanismos neurais responsáveis pelo desenvolvimento do comportamento de dependência e pela sensibilização psicomotora sejam distintos.

ABSTRACT

The sensitization theory establishes that the increased ethanol stimulant effect is related to the individual predisposition to develop alcohol addiction. Based on this theory, it was developed an addiction model to evaluate the presence of the sensitization to the ethanol stimulant effect in mice exhibiting an addiction pattern. One group of mice (n=30) was exposed to a free choice paradigm among ethanol solutions (5% and 10%) and water, consisting in four phases: free choice (12 weeks), withdrawal (2 weeks), re-exposure (2 weeks) and adulteration (3 weeks). Other mice had only water access (control group, n=10). They were housed individually with food *ad libitum*. Their behaviors were evaluated in the beginning of the treatment, during the withdrawal and 24 hours after the withdrawal from the oral ethanol administration by a challenged dose of ethanol (2g/kg i.p.) or saline 0,9%. Based on the individual ethanol intake (g/kg), the mice were characterized in 3 groups: dependent (n=6), those which presented preference for ethanol, higher ethanol ingestion without reducing their intake in the adulteration phase; non-dependent heavy drinker (n=11) those which showed preference for ethanol, higher ethanol ingestion but reduced their intake following the withdrawal or during in the phase adulteration; and non-dependent light drinker (n=7) those which presented no preference for ethanol, stable and low ethanol consumption in the all the phases of the treatment. The 'dependent' group had a compulsive behavior profile manifested by the continued ethanol intake even under aversive conditions. Furthermore, this group was the only one that showed high permanence time in the center of the plus maze when tested before the exposition to the free choice paradigm suggesting a possible anxiety trait/state contributing for ethanol addiction. Besides, this group significantly reduced its ambulation during the withdrawal period suggesting an anxiety response compatible to a trait related to their initial pattern behavior or to a state resultant from the ethanol withdrawal. There was no correlation between ethanol consumption and ambulation after acute ethanol challenge dose. Despite the heavy ethanol intake group had showed a greater locomotor activity than that observed in the control group and in relation to its own basal locomotion, there was no difference among groups considering the animal proportions showing sensitization, suggesting that probably the neural mechanisms responsible for the development of addiction and for the psychomotor sensitization are independent.

1 INTRODUÇÃO

1.1 BREVE HISTÓRICO DO USO DE ETANOL

Sob uma perspectiva evolucionista (DUDLEY, 2002), tem sido levantada a hipótese, através de análises dos ancestrais do homem, sugerindo que há pelo menos 24 milhões de anos a linhagem de primatas da qual descende o *Homo sapiens* era predominantemente frugívora, consumindo assim pequenas concentrações de álcool (níveis inebriantes) provenientes de frutas maduras e também da fermentação por fungos presentes nesses alimentos. Tal exposição seria responsável ou ao menos propiciaria o surgimento de adaptações que nos conduziria ao uso dessa droga. Tem sido destacada a variabilidade genética entre as enzimas metabolizadoras de álcool (álcool desidrogenase e acetaldeído desidrogenase), a interação entre genótipo e ambiente (povos que apresentam uma alta atividade da enzima acetaldeído desidrogenase, embora sem alta prevalência de alcoolismo), como indícios de uma possível seleção que teria contribuído para o consumo ao longo dos anos.

Todavia, até o momento têm-se apenas resultados positivos em relação à utilização de baixos níveis de álcool com a *Drosophila species* (melhora na reprodução e longevidade), dificultando o estabelecimento de uma justificativa para a preferência manifestada pelo homem, ou mesmo da existência de alguma adaptação fisiológica benéfica, como poderia ser esperado encontrar seguindo-se o conceito de 'hormesia' (*hormesis* - efeitos benéficos e estimulatórios com o uso em concentrações não tóxicas) no contexto da seleção natural.

A partir de épocas mais recentes, têm-se relatos de escrituras na Mesopotâmia com cerca de 2.200 anos a.C. contendo referências ao uso de bebidas alcoólicas (MACRAE, 2000). A civilização egípcia já preparava medicamentos compostos por vinhos ou cervejas, e aproximadamente nos anos 800 os árabes já realizavam o processo de destilação do álcool (TOSCANO JR., 2000).

A mais antiga menção do uso de álcool dentro do contexto judaico-cristão trata-se de um período pós-diluviano no qual Noé é descrito sob efeito de uma bebida alcoólica:

“E, como Noé que era lavrador, começou a cultivar a terra, e plantou uma vinha. E tendo bebido do vinho, embebedou-se e apareceu nu na sua tenda”.
(Gênesis, 9-20, 21)

Estudos antropológicos relatam que o uso de álcool entre os homens data desde os primórdios da origem das civilizações, fazendo parte de rituais religiosos, ritos de passagem, festas recreativas e orgias (TOSCANO JR., 2000).

Usado em vários contextos para propósitos diferentes, o consumo de álcool perdurou por milênios, ultrapassando fronteiras e limites culturais, e sobreviveu a repressões políticas (promulgação da Lei Seca (*Volstead Act*) em 1919 nos *United States of America*) e religiosas (proibição por Maomé no sagrado Corão).

Além disso, sua utilização parece ter sido circundada por incoerências, visto que ao mesmo tempo em que facções da sociedade restringiam o uso de álcool (fundamentalistas islâmicos), outras eram permissivas (católicos apostólicos romanos).

Praticamente todas as civilizações que tiveram contato com o álcool observaram a ocorrência de problemas decorrentes de seu consumo, pois o limite entre o “uso” e “abuso” era tênue surgindo assim a necessidade de distinguir o beber “moderadamente” do “excessivo”.

Assim, a idéia de alcoolismo como doença veio a crescer de forma gradativa nos últimos duzentos anos, onde concepções sobre o desenvolvimento do comportamento de dependência como sendo um “transtorno”, um “hábito que evoluía para a necessidade”, uma “perda de controle”, começaram a ser cogitados (TOSCANO JR., 2000).

Desde o início a “doença embriaguez”, como era chamado o alcoolismo, passou a ser tratada pela psicologia através de técnicas que geravam um conflito motivacional (TOSCANO JR., 2000), predizendo que tal transtorno poderia ocorrer em decorrência de uma associação de estímulos que conduziria a um comportamento motivado pela droga e circunstâncias relacionadas a ela.

Do ponto de vista sócio-político foi necessária a elaboração de leis que contivessem o uso de álcool de forma imprudente, mas como em muitas outras situações em nossa sociedade as regras, que discriminam entre aceitar e reprimir

um ato, passaram a se apresentar contraditórias negligenciando a própria vida do indivíduo ou até mesmo contribuindo para a disseminação do uso indiscriminado (MAGALHÃES, 1994).

Embora o álcool seja uma droga capaz de produzir alterações fisiológicas refletindo em mudanças na saúde física e psíquica do usuário não se pode perder de vista que o homem é "*Zoon Politikon*" (um ser social) e que através de suas interações com os demais indivíduos e com o meio ambiente suas motivações e anseios são constantemente influenciados e isso pode ser usado de forma favorável à saúde ou contrária criando falsas perspectivas ou idéias infrutíferas formando um ser incapaz de almejar maiores sentidos em sua existência.

Sabe-se que o consumo de álcool se fez presente entre os homens praticamente desde o início de nossa espécie, no entanto, como a natureza humana e a etiologia da dependência envolvem aspectos tão diversos, muitos pontos acerca da origem do uso dessa droga ainda precisam ser investigados.

1.2 EFEITOS FARMACOLÓGICOS

O etanol é considerado um depressor do sistema nervoso central, apesar de baixas doses inicialmente promoverem um efeito estimulatório, sendo observado os seguintes efeitos conforme sua ingestão continuada: desinibição, diminuição na atenção, alterações na memória, mudanças de humor, incoordenação motora, sonolência, letargia, confusão, amnésia, perda de sensações, dificuldade de respirar e morte (VALENZUELA, 1997).

A molécula de etanol é altamente lipofílica penetrando facilmente pelas membranas biológicas de um organismo. Essa característica contribui para que tenha um amplo espectro de ação, interferindo com quase todos os sistemas neurotransmissores e também com o funcionamento de órgãos situados na periferia (PONNAPPA; RUBIN, 2000) promovendo até modificações em nível de expressão gênica. As vias neurotransmissoras melhor estudadas que sofrem alterações pelo

etanol são a do ácido gama-aminobutírico (GABA), que possui ação inibitória sobre a célula ligando-se em uma subunidade do complexo do receptor GABA_A e a do glutamato, que possui ação excitatória ao se ligar no receptor N-metil-D-aspartato (NMDA). O etanol exerce seu efeito depressor por meio da exacerbação da transmissão inibitória e da inibição da transmissão excitatória no sistema nervoso central.

O etanol potencializa a ação do GABA sobre o complexo do receptor GABA_A através de um mecanismo ainda desconhecido, sendo que a sua distribuição nas regiões do sistema nervoso central e a variabilidade na composição das subunidades desse complexo distinguem sua sensibilidade ao etanol. Estudos encontraram que a isoforma L da subunidade γ_2 do receptor GABA_A seria determinante para a ação do etanol, uma vez que a isoforma S se mostra insensível ao etanol mesmo em concentrações intoxicantes, em culturas de células (MIHIC; HARRIS, 1997). Entretanto, análises em camundongos *knockout* faltando a subunidade γ_{2L} não revelaram alterações significativas em sua resposta comportamental ao etanol, tempo de sono, ansiedade, tolerância, locomoção, quando comparados com camundongos que apresentavam essa subunidade (U. S. CONGRESS ON ALCOHOL AND HEALTH, 2000). Pode-se encontrar na literatura que o administração crônica de etanol altera a expressão de mRNA das diferentes subunidades do receptor GABA_A (diminuição ou nenhuma alteração da α_1 , α_2 , α_5 e α_3 ; aumento ou nenhuma alteração da α_4 , β_1 , β_2 , β_3 , γ_1 , γ_2 , γ_3 e δ), e esses resultados sofreram variações conforme o tempo de tratamento com etanol, a região cerebral onde estava localizado o receptor, a presença de heterorreceptores que podem interagir com a via gabaérgica, como por exemplo, o antagonista do receptor NMDA dizocilpina (MK-801), que aumenta a expressão da subunidade α_4 e diminui a da $\beta_{2/3}$. Estudos também apontam que diferenças entre o sexo do animal podem levar a um padrão dissimilar na expressão dos receptores GABA_A, nos quais a expressão da subunidade α_1 em córtex cerebral de ratos machos se mostrou reduzida sendo que em fêmeas expostas ao mesmo tratamento não, sugerindo que os esteróides endógenos têm um papel como neuromoduladores (GROBIN; PAPADEAS; MORROW, 2000). Além disso, parece haver outros fatores que seriam importantes para a modulação do complexo do receptor GABA pelo etanol, tais como ativação de diferentes isoformas de proteína quinase C (PKC), da proteína

quinase A (PKA) e disposição tridimensional do receptor. O etanol também pode atuar sobre os receptores da glicina, aumentando o fluxo de íons cloreto mediado por esse receptor, e estudos demonstram que receptores com a subunidade α_1 são mais sensíveis a baixas concentrações de etanol do que aqueles com a α_2 (U. S. CONGRESS ON ALCOHOL AND HEALTH, 2000).

Análises eletrofisiológicas e bioquímicas produzem evidências de que o etanol atua inibindo a função do receptor NMDA, bem como a liberação de outros neurotransmissores como dopamina, noradrenalina e acetilcolina, induzida por tal receptor, levando a um aumento no número de sítios ligantes desse receptor em animais expostos cronicamente. Tem se sugerido que seria necessária a presença da subunidade NR_{2B} nos receptores NMDA para que o etanol produzisse seu efeito, no entanto também foram encontradas alterações nas expressões das subunidades NR₁ e NR_{2A} em várias regiões cerebrais após tratamento crônico de ratos (GONZALES; JAWORSKI, 1997; DODD et al., 2000). Análises da resposta do receptor NMDA têm revelado que o etanol reduz o número de vezes de abertura do canal, e diminui a quantidade de tempo que o canal permanece aberto (U. S. CONGRESS ON ALCOHOL AND HEALTH, 2000). Estudos sugerem que diferentes subtipos de receptores do glutamato, o ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA) e o Kainato (KA), também são sensíveis ao etanol, porém a sua quantidade para inibir esses receptores seria bem maior do que a necessária para inibir os receptores NMDA (GONZALES; JAWORSKI, 1997; DODD et al., 2000). Foi encontrado um aumento na expressão da subunidade GluR₁ na área tegmental ventral após tratamento crônico, porém resultados de outros experimentos não revelaram diferenças na expressão das subunidades dos receptores AMPA (DODD et al., 2000). A neurotransmissão dopaminérgica parece ser bem sensível à ação do etanol. Foi relatado que administrações diretamente na corrente sanguínea de baixas doses de etanol promoveu um aumento na liberação de dopamina na parte externa do núcleo accumbens em ratos, no entanto esse aumento seria decorrente da interação da via dopaminérgica com os peptídeos opióides endógenos (DI CHIARA, 1997). Pesquisas também demonstraram que o aumento na concentração de dopamina extracelular poderia ser mediado via receptor 5HT₃ localizado em neurônios dopaminérgicos (U.S. CONGRESS ON ALCOHOL AND HEALTH, 2000).

Estudos em animais revelaram que a exposição aguda ao etanol leva a um aumento na liberação de serotonina, e também foi observada uma interação direta com proteínas ou moléculas associadas ao receptor 5HT₃, exacerbando a neurotransmissão serotoninérgica. Parece que o etanol afeta a atividade do receptor 5HT₃ promovendo a abertura do canal de forma mais estável (U. S. CONGRESS ON ALCOHOL AND HEALTH, 2000). Esses receptores 5HT₃ também podem estar localizados em neurônios que liberam ácido gama-aminobutírico na região do hipocampo e são responsáveis pelo aumento da transmissão nesses neurônios, portanto o aumento na transmissão serotoninérgica induzido pelo etanol pode influenciar a transmissão nesses neurônios gabaérgicos. Em longo prazo, foi observado que usuários crônicos de etanol apresentavam uma diminuição nos níveis do metabólito da serotonina no fluido cerebrospinal, o ácido 5-hidroxiindolacético, porém sua possível relação com desenvolvimento da dependência ainda não está clara. Também foi notado em animais de laboratório que receberam etanol por semanas um aumento no número de receptores e na transdução de sinais desencadeados pelos receptores 5HT₂. É bem descrito na literatura que a serotonina também pode interferir com a via dopaminérgica através de seus receptores 5HT₂ e 5HT₃ localizados na área tegmental ventral (VTA), onde o aumento da liberação de serotonina induzida pelo etanol promove um aumento na liberação de dopamina nessa região (LOVINGER, 1997; U. S. CONGRESS ON ALCOHOL AND HEALTH, 2000).

A administração aguda de etanol em culturas de células de certas regiões do cérebro de roedores aumenta a expressão do gene de encefalinas e endorfinas, o consumo agudo aumenta a liberação de peptídeos opióides nos tecidos ou em células isoladas do cérebro e da glândula pituitária de roedores, e também aumenta a liberação de peptídeos opióides na pituitária de organismos intactos de roedores e humanos. A administração crônica de etanol leva a uma diminuição na expressão do gene opióide em cérebros de ratos, e em humanos dependentes de etanol há uma diminuição na liberação de β -endorfinas (FROEHLICH, 1997).

Culturas de células neuronais expostas agudamente ao etanol têm seus níveis de adenosina aumentado no meio extracelular devido à inibição de sua captação por proteínas transportadoras específicas, e através da interação entre a adenosina e seu receptor A₂ há aumento na concentração de AMPc intracelular. Em

contrapartida, a exposição crônica ao etanol leva a uma redução nos níveis de AMPc devido à dessensibilização dos receptores acoplados à proteína G com a subunidade α_s . O etanol parece não alterar a captação de adenosina em outros tipos de células. Pesquisas têm sugerido que as proteínas transportadoras de adenosina se tornam insensíveis ao etanol após exposição crônica, devido a uma modificação em sua estrutura ocasionada pela ação de PKA, responsável pela sensibilidade ao etanol, e PKC, responsável pela tolerância ao etanol. Em organismos vivos, os níveis de adenosina também aumentam após consumo de etanol. Outros estudos revelaram que antagonistas de adenosina podem prevenir e agonistas podem aumentar o aumento na liberação de β -endorfinas induzida pelo etanol em regiões específicas do cérebro; e também que antagonistas da adenosina podem prevenir a liberação de glutamato induzida pelo etanol em neurônios hipocâmpais. (DOHRMAN; DIAMOND; GORDON, 1997)

Pesquisas em animais de laboratório têm demonstrado um prejuízo na transmissão colinérgica após tratamento crônico com etanol manifestado através de uma redução na captação da colina, substrato para a síntese do neurotransmissor acetilcolina; diminuição na síntese, estocagem e liberação de acetilcolina; redução na atividade da acetilcolinesterase, enzima que degrada a acetilcolina; sendo que essas alterações se encontravam em regiões do cérebro implicadas com a formação da memória, e em paralelo foi observado um déficit na performance desses animais em testes que envolviam memória e aprendizado, levantando evidências de que tais mudanças produzidas pelo etanol poderiam estar associadas com transtornos na memória (FADDA; ROSSETTI, 1998).

Experimentos em que ratos são expostos a um tratamento crônico com etanol têm revelado alterações na atividade da ciclina dependente de quinase-5 e na expressão de suas proteínas reguladoras, p35 e p37, no córtex e cerebelo o que pode estar contribuindo para a atrofia cerebral associada a neurodegeneração observada em dependentes de etanol (RAJGOPAL; VEMURI, 2001).

Apesar dos inúmeros estudos relatando os efeitos deletérios do etanol sobre o organismo, e das incessantes tentativas na esperança de se encontrar genes ou proteínas específicas relacionadas com o desenvolvimento do alcoolismo através de

análises genômicas (EHRINGER; SIKELA, 2002) e proteômicas (ANNI; ISRAEL, 2002), é extremamente difícil traçar um mecanismo de ação que esteja envolvido com esse transtorno visto que se trata de uma droga altamente inespecífica, como já dito anteriormente.

1.3 NEUROBIOLOGIA DA DEPENDÊNCIA

O comportamento de dependência é entendido como o uso compulsivo de etanol ou outras drogas de abuso, onde o indivíduo perde o controle sobre o desejo de consumir a droga e passa a sentir a necessidade de usá-la de forma excessiva. Há evidências que apontam para uma causa de origem genética ou biológica para esse transtorno, contudo devido a sua natureza poligênica e heterogeneidade clínica os constantes esforços para distinguir o fator ou gene causador desse transtorno são extremamente dificultados, além de ter de se considerar a forte influência do meio ambiente sobre a manifestação desse comportamento (SAMSON; HARRIS, 1992; HESSELBROCK; HESSELBROCK; EPSTEIN, 1999).

Os efeitos do etanol, bem como de outras drogas de abuso, responsáveis por contribuir ou modular o comportamento de dependência são chamados de reforçadores. As propriedades reforçadoras das drogas e a neuroadaptação são fatores que contribuem para o comportamento de dependência (ROBERTS; KOOB, 1997).

Pode-se ressaltar dois tipos de processos de aprendizado que podem ser modulados por esses efeitos reforçadores, que são o **pavloviano** ou **clássico** que consiste na associação de um estímulo neutro (luz ou som) com uma recompensa (comida ou bebida de sabor agradável), e o **operante** ou **instrumental** em que o próprio estímulo é percebido como um reforço através da evocação de uma resposta dada pelo indivíduo que pode ser a de obter (reforço positivo) ou evitar (reforço negativo) o mesmo estímulo (DI CHIARA, 1997).

Os efeitos reforçadores positivos envolvem estímulos prazerosos ou recompensadores, e os negativos envolvem estímulos desgostosos ou que tendem a aliviar a dor ou um mal-estar presente, e ambos fazem parte do processo de

aprendizado que envolve a motivação para consumir a droga. Essas propriedades de reforço em conjunto com estímulos ambientais servem como motivadores para o consumo de etanol e podem incitar o uso continuado da droga evocando lembranças associadas ao seu uso, por exemplo, lugares onde se tomava a droga podem despertar estados de euforia similares aos provocados pela droga mesmo em sua ausência (ROBERTS; KOOB, 1997).

Ainda, aspectos comportamentais que contribuem para a motivação de consumir o etanol podem ser separados em apetitivo (por exemplo, ações realizadas para a obtenção da droga desejada) que pode ser condicionado, e consumatório (por exemplo, consumo da droga), sendo que cada um desses comportamentos parece envolver regiões cerebrais e neurotransmissores distintos, revelando que os mecanismos que regulam o comportamento de dependência são extremamente complexos (ROBBINS; EVERITT, 1996).

Os centros cerebrais envolvidos com a via de recompensa incluem conexões entre o prosencéfalo basal e a área tegmental ventral, juntamente com a amígdala, córtex frontal, núcleo accumbens e tubérculo olfatório. Embora essas estruturas mostrem um papel dentro do sistema recompensador cerebral, pouco tem sido estudado a respeito da sensibilidade dessas vias às drogas ou das conexões com outros sítios de recompensa (WISE, 1998).

O sistema neurotransmissor que foi mais bem identificado em relação às ações das drogas de abuso é o sistema mesolímbico dopaminérgico, cujas projeções partem da área tegmental ventral em direção ao núcleo accumbens, sendo esse substrato neural crucial para os efeitos reforçadores e motivacionais de estímulos recompensadores como comida, sexo e drogas de abuso (HYMAN; MALENKA, 2001). Todavia, para o etanol ainda não estão elucidadas as bases celulares que justifiquem o aumento do disparo de dopamina nessa via e sua contribuição para a recompensa (WISE, 1998). Outros sistemas neurotransmissores também apresentam projeções para a via dopaminérgica mesolímbica podendo exercer algum papel modulatório sobre tal via, como o de serotonina, noradrenalina, acetilcolina, opióide, glutamato e GABA (KOOB, 1992).

Estudos têm procurado caracterizar os mecanismos neurofarmacológicos que o etanol utiliza para produzir seus efeitos reforçadores, através da análise de dicas ou estímulos discriminatórios, e há indícios de que o etanol produza uma mistura de

estímulos compostos de elementos que lembram os efeitos dos moduladores dos receptores GABA_A e antagonistas do NMDA (STOLERMAN; OLUFSEN, 2001), além disso, os receptores GABA_A estão sendo implicados na modulação dos efeitos recompensadores e aversivos do etanol, dependendo de sua localização no sistema nervoso central, por exemplo, a ativação do receptor GABA_A no núcleo dorsal da rafe, mas não no núcleo mediano, aumenta a auto-administração de etanol (CHESTER; CUNNINGHAM, 2002).

Outras neuroadaptações implicadas com o uso crônico de etanol e que podem estar relacionadas com o desenvolvimento de dependência são sensibilização (descrita abaixo); tolerância, manifestado pela redução dos efeitos das drogas após o uso continuado; e síndrome de abstinência, manifestada por uma série de sintomas físicos e psíquicos que parecem contribuir para a formação do desejo compulsivo pela droga e conseqüentemente para as recaídas.

O fenômeno da tolerância pode ser observado a nível fisiológico e comportamental. A tolerância fisiológica envolve mecanismos compensatórios que o organismo disponibiliza para manter o equilíbrio, como por exemplo, o aumento de determinadas enzimas que fazem parte da metabolização do etanol permitindo que a droga seja eliminada mais rapidamente (tolerância farmacocinética), o aumento ou diminuição de determinadas moléculas receptoras que são alvos para as drogas servindo assim como um mecanismo de modulação dos efeitos que as drogas produzem ao interagirem com tais alvos (tolerância farmacodinâmica). A tolerância comportamental constitui-se em um processo de aprendizado que o indivíduo desenvolve na presença da droga, podendo ser adquirida após poucas exposições ao etanol e não necessita de um período de abstinência para ser extinta. O sucesso de tal aprendizado está intimamente associado com a espera de um “resultado favorável” após se realizar determinada tarefa ou trabalho, sendo portanto continuamente influenciado pelas conseqüências ambientais de uma resposta (VOGEL-SPROTT, 1997).

A síndrome de abstinência é caracterizada por uma hiperexcitabilidade neural decorrente da exacerbação da ação do glutamato sobre os receptores NMDA e diminuição da neurotransmissão gabaérgica. Apresenta sinais e sintomas como tremor, irritabilidade, distúrbio do sono, náusea, hipertensão, taquicardia, transpiração, convulsões, síndrome *delirium tremens* (agitação, confusão, alucinação

visual, febre, transpiração, taquicardia, náusea, diarreia, midríase), que tendem a desaparecer dentro de semanas a meses após a suspensão do uso da droga, com exceção da síndrome citada.

Estudos (FINN; CRABBE, 1997) com administração crônica de etanol em animais têm demonstrado que a expressão de algumas subunidades do complexo do receptor GABA_A pode estar aumentada enquanto que de outras estaria diminuída, e tais alterações também foram encontradas nas subunidades do receptor NMDA e na subunidade GluR6/7 do receptor de kainato (CARTA et al., 2002).

Ainda, tem sido demonstrado que a administração crônica de etanol também leva a um aumento nos sítios ligantes de antagonistas, como o das dihidropiridinas, do canal de cálcio sensível a voltagem, sendo portanto mais um mecanismo envolvido com a excitabilidade neural observada com a retirada do etanol (FINN; CRABBE, 1997).

Além dessas alterações estarem envolvidas com os sintomas observados na síndrome de abstinência, podem também contribuir para o uso continuado da droga através de neuroadaptações persistentes originadas em resposta à presença contínua da droga, sendo essas responsáveis pela volta ao consumo ou recaídas.

1.4 MODELOS ANIMAIS DE DEPENDÊNCIA

Os modelos animais desenvolvidos buscam mimetizar nos animais os sintomas descritos em humanos a fim de investigar os mecanismos envolvidos na gênese e evolução da doença. A dificuldade de se relacionar características de origem psicossocial em animais compromete a validade do modelo, no entanto, apenas com o uso de animais há a possibilidade de se executar procedimentos invasivos (CUNNINGHAN; FIDLER; HILL, 2000; KOOB, 2000; SPANAGEL, 2000). Além disso, tais modelos são úteis para determinar qual tratamento seria mais efetivo em reduzir o consumo de etanol entre as pessoas que sofrem de

dependência (HITZEMANN, 2000), ou podem servir como meio para triagem de drogas com potencial uso para tratamento.

A validação de constructo de um modelo experimental de dependência baseia-se em critérios utilizados para diagnóstico em humanos como os propostos pela *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4º (DSM-IV), que são: efeito diminuído com o uso continuado da mesma quantidade da droga (tolerância); síndrome de abstinência ou uso de outra substância para evitar ou aliviar os sintomas da abstinência; desejo persistente ou insucessos na tentativa de parar o uso; uso por longos períodos ou grandes quantidades; aumento de tempo gasto para obter, usar ou recuperar-se dos efeitos da droga; atividades sociais, ocupacionais ou recreacionais são evitadas ou reduzidas em função do uso da droga; uso continuado apesar do conhecimento de que a droga causa ou exacerba um prejuízo em sua saúde (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994).

Na literatura, pode-se encontrar várias descrições de modelos (SPANAGEL; HÖLTER, 1999; CUNNINGHAN; FIDLER; HILL, 2000; SPANAGEL, 2003) em que o animal é exposto a um paradigma de escolha, geralmente entre soluções etílicas em várias concentrações e aquosas, utilizando metodologias e técnicas variadas, apresentando o objetivo comum de avaliar as propriedades reforçadoras do etanol que interferem com a motivação para o consumo da droga.

Dentre algumas metodologias usadas temos as que adicionam aditivos gustativos (sacarina ou sucrose) tornando o sabor mais agradável das soluções ofertadas aos animais para que os mesmos comecem a ingerir a droga; as que determinam limites de acesso à droga fazendo com que os animais consumam grandes quantidades da droga em um curto período de tempo ou o contrário permitindo aos animais longos períodos de acesso onde eles podem espaçar uma ingestão e outra conforme sua necessidade; as que expõem o animal primeiramente a baixas concentrações da droga e após esse período de adaptação passa a expô-lo a concentrações maiores.

Em relação às técnicas comumente utilizadas pode-se citar a de condicionamento que varia quanto ao estímulo condicionante: **de lugar**, consiste em expor o animal a dois ambientes sendo que em um deles o animal receberia a droga, depois é avaliado o tempo gasto pelo animal em cada ambiente e isso é tido como medida para dizer se a droga administrada possuía efeitos reforçadores positivos,

isto é, se o animal passasse a maior parte do tempo no ambiente em que recebeu a droga, ou negativos, se o animal evitasse o ambiente em que recebeu a droga; de **sabor**, consiste em parear um alimento ou líquido de sabor novo com a administração da droga e posteriormente avaliar, na ausência da droga, se a mesma possuía efeitos reforçadores positivos, caso o animal apresentasse consumo aumentado ou preferência pelo estímulo condicionante, ou efeitos reforçadores negativos, caso ocorresse o contrário (STOLERMAN, 1992; ROBERTS; KOOB, 1997; TABAKOFF; HOFFMAN, 2000; CUNNINGHAN; FIDLER; HILL, 2000).

Outra técnica é a de condicionamento operante, onde o animal realiza o aprendizado de pressionar uma barra para obter a droga, sendo avaliado o comportamento de procura, padrão de ingestão e preferência do animal. Uma variante desse modelo de preferência é o da auto-administração operante intracranial, onde o animal pressiona uma barra e recebe o estímulo reforçador ou não, e dependendo do número de vezes que a barra é pressionada pode-se inferir que a região atingida esteja envolvida nos processos reforçadores das drogas.

Outro modelo de condicionamento operante foi elaborado baseando-se em uma analogia entre a influência das conseqüências causadas pelo uso excessivo de etanol e análise econômica de consumo. Tal modelo, chamado de economia comportamental, atribui ao padrão de consumo pesado de etanol a característica de ser “inelástico” pois apesar do aumento do “preço” - ou trabalho - que o animal teria que pagar - ou realizar - para obter a droga, seu consumo persiste sem redução (HEYMAN, 2000).

Além dessas, há a técnica de livre escolha que permite ao animal ingerir a quantidade que lhe for desejada da droga, traçando seu próprio padrão temporal de consumo, sendo esse modelo de tratamento chamado de ponto sem retorno. Nesse modelo, o tratamento do animal é dividido em quatro fases (livre escolha inicial, abstinência, reapresentação e adulteração) sendo que a última consiste em expor o animal a um estímulo aversivo (por exemplo, adulteração do sabor das soluções contendo a droga tornando-as amargas). Apenas os animais que se tornam dependentes após esse tratamento, continuam a consumir a droga na fase de adulteração. Assim, o animal pode escolher entre soluções que contenham ou não a droga em circunstâncias ambientais variadas, e através disso exibir seu comportamento de procura pela droga (WOLFFGRAMM; HEYNE, 1995;

SPANAGEL, 2003). Em suma, os modelos de comportamento de procura pelo etanol, onde o animal exibe sua preferência em relação à quantidade e ao que consumir, permite caracterizar as vias neuroquímicas e moleculares que podem contribuir para o uso do etanol (TABAKOFF; HOFFMAN, 2000).

Modelos chamados de *kindling* buscam averiguar as propriedades reforçadoras negativas do etanol e consistem em expor o animal a administrações forçadas e repetidas (através de vapores, intubação intragástrica, dieta contendo apenas a droga), e posteriormente avaliar consecutivas síndromes de abstinência a fim de intensificar os sintomas manifestados durante esse período e com isso identificar os parâmetros comportamentais e biológicos que contribuem para a motivação de consumir a droga e conseqüentemente levam o animal a apresentar recaídas (FINN, CRABBE, 1997; SPANAGEL, HÖLTER, 1999; BECKER, 2000).

Atualmente, camundongos manipulados geneticamente como os transgênicos, que apresentam um gene estranho (transgene) em seu genoma, e os *knockout* ou *knock-in*, que sofrem deleção ou mutação de um gene, respectivamente, são utilizados para observar a influência dos genes sobre o desenvolvimento do comportamento de dependência (BOWERS, 2000; PHILLIPS, 2002). Os genes que são escolhidos para serem integrados ou excluídos ao organismo são selecionados visando sua contribuição a nível bioquímico ou comportamental.

Outra maneira de se averiguar a influência genética sobre as respostas ao etanol é através da técnica *selected lines* que consiste em selecionar duas linhagens de animais que apresentam diferentes variantes (alelos) dos genes relacionados com a desordem do alcoolismo, porém com alelos similares dos genes que não possuem relação com essa desordem (STEWART; Li, 1997; TABAKOFF; HOFFMAN, 2000; GRAHAME, 2000). Algumas das linhagens selecionadas que têm sido usadas para o estudo dos comportamentos relacionados com o etanol mostram diferenças quanto à sensibilidade ao efeito hipnótico do etanol (camundongos *long-sleep* e *short-sleep*), ao efeito hipotérmico (camundongos COLD e HOT), ao efeito estimulatório (camundongos FAST e SLOW), à susceptibilidade às convulsões na abstinência (camundongos propensos à convulsão na abstinência – WSP – e resistentes – WSR), à tolerância aguda funcional (camundongos HAFT e LAFT), à

preferência (ratos que preferem – P – e não preferem – NP – etanol), (STEWART; Li, 1997; TABAKOFF; HOFFMAN, 2000; GRAHAME, 2000).

Outra técnica chamada de *inbred strain* utiliza-se de cruzamentos entre animais machos e fêmeas irmãos, repetindo-se os cruzamentos por aproximadamente vinte gerações de descendentes, a fim de gerar uma linhagem de animais consangüíneos geneticamente idênticos (por exemplo, homozigóticos para cada alelo), no entanto, podendo diferir quanto às características relacionadas ou não ao alcoolismo (TABAKOFF; HOFFMAN, 2000; GRAHAME, 2000).

Apesar dos avanços nas pesquisas genéticas buscando identificar genes que estariam associados com o desenvolvimento da dependência de etanol, o uso de animais geneticamente selecionados ou manipulados pode comprometer a integridade do estudo da dependência se não for levado em consideração que em um organismo onde foram provocadas alterações a nível genético haverá adaptações em resposta a essas alterações, podendo levar a observações decorrentes não do fator causal, mas sim do factício.

1.5 SENSIBILIZAÇÃO E DEPENDÊNCIA

A sensibilização ou tolerância reversa a uma droga é manifestada pelo aumento dos efeitos dessa droga por meio de administrações repetidas em baixas doses.

Tendo em vista esse fenômeno e outros aspectos do comportamento da dependência, foi desenvolvida a Teoria da Sensibilização (ROBINSON; BERRIDGE, 1993) que estabelece que indivíduos cujo comportamento, tanto a nível biológico quanto psicológico, se mostra mais sensibilizado às drogas e a seus estímulos associados são mais susceptíveis a se tornarem dependentes, ou seja, passariam a exibir um comportamento compulsivo pela droga ou *craving*, apresentando um desejo duradouro que contribuiria para as recaídas.

Segundo tal Teoria, os substratos neurais e processos psicológicos responsáveis pelo “querer” são distintos dos do “gostar” da droga. O prazer decorrente de algo agradável ou o “gostar” de algo reforçador, seja natural ou não, não seria auto-suficiente para motivar o comportamento, e nem a experiência ou a expectativa de um prazer iminente exerceriam tanta influência sobre o “querer”. No entanto, os processos que envolvem o “querer” requerem mais atenção e se mostram mais atrativos, proporcionando saliência ao incentivo.

Assim, a manifestação da sensibilização comportamental parece ser decorrente de uma associação complexa entre aprendizado, prazer e saliência ao incentivo, e haveria diferentes sistemas neurais para cada um desses processos. O processo de aprendizado por si só não teria habilidade de gerar um comportamento compulsivo, mas as pistas relacionadas às drogas oriundas da associação implícita entre estímulo-estímulo (aprendizado implícito) podem permanecer inalteradas nos dependentes por longos períodos, senão a vida toda (ROBINSON; BERRIDGE, 2003). O último elemento, que consiste na saliência ao incentivo, abrange o comportamento de procura ou o “querer” a droga, e representa uma exacerbação ou saliência de fatores externos que estejam envolvidos nos aspectos motivacionais.

Portanto, o uso continuado da droga provocaria a sensibilização dos substratos neurais relacionados ao comportamento de procura pela droga (querer a droga) e determinaria a saliência ao incentivo de consumir a droga, e não o valor hedônico da mesma (gostar da droga). Por exemplo, indivíduos sensibilizados às ações da droga passariam a exibir um comportamento de procura cada vez maior e o prazer ao consumir tal droga não estaria necessariamente se intensificando, devido às propriedades motivacionais serem dissociadas de seus efeitos prazerosos.

Foi proposto inicialmente que o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico e projeções para o núcleo accumbens seriam os principais implicados com o desenvolvimento da sensibilização, visto o envolvimento da dopamina nos efeitos reforçadores das drogas psicoestimulantes e processos motivacionais. Com base nisso, foi descrito o fenômeno de sensibilização cruzada que consiste na evocação da resposta comportamental à sensibilização a uma droga por outras que não haviam sido administradas ou por agentes estressores que desencadeariam a ativação do sistema sensibilizado (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003).

Entretanto, várias mudanças têm sido relatadas em outros sistemas neurotransmissores (serotoninérgico, glutamatérgico, noradrenérgico, colinérgico, opióidérgico, gabaérgico) envolvidos com os circuitos do núcleo accumbens relacionados à recompensa após o desenvolvimento da sensibilização (ROBINSON; BERRIDGE, 2003), trazendo a tona indícios ou da existência de vias ainda desconhecidas que levam a uma ativação do sistema dopaminérgico ou de um erro ao se concentrar a base neurobiológica da sensibilização no circuito dopaminérgico.

De acordo com essa Teoria os efeitos psicoestimulantes de uma droga de abuso envolvem suas propriedades reforçadoras e motivacionais, interferindo assim com a atividade psicomotora cujo aumento, após administrações repetidas e intermitentes dessa droga em baixas doses, é tido como o mais usado para medir a sensibilização comportamental (MASUR; BOERNGEN, 1980). A relevância no estudo dos efeitos das drogas sobre a atividade psicomotora estaria na suposição de que os substratos neurais envolvidos com as propriedades reforçadoras que medeiam esses efeitos fossem, ao menos em parte, os mesmos responsáveis pelos efeitos de recompensa da droga (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003).

Outra importante característica da sensibilização comportamental é que sua expressão não é uma consequência inevitável da exposição repetida a drogas. Ao contrário, a habilidade da droga induzir ou expressar a sensibilização seria fortemente modulada pelo estresse, aprendizado e estímulos associados à administração da droga, pois os processos neurais envolvidos com a indução parecem diferir dos envolvidos com a expressão da sensibilização. Como exemplo da influência dos estímulos do ambiente sobre a modulação da expressão da sensibilização pode-se citar a avaliação da atividade locomotora no mesmo ambiente ou em um ambiente diferente daquele em que os animais seriam tratados com a droga. Na primeira situação poderia ser encontrado um resultado mais favorável à sensibilização, nesse caso os animais demonstrariam a sensibilização aos efeitos estimulantes psicomotores, na segunda situação dificilmente seria expressa a sensibilização no comportamento. Porém, também existem estudos nos quais a eficácia da indução da sensibilização é diminuída mesmo realizando-se os testes no mesmo ambiente em que os animais recebiam a administração da droga. É proposto que o efeito do contexto ambiental não evita completamente a sensibilização, mas muda a curva dose-efeito para a indução da sensibilização

(ROBINSON; BERRIDGE, 2000, 2001, 2003). No entanto, para outros autores a mudança no padrão da resposta à sensibilização poderia ser devido a uma alteração na forma da curva dose-resposta e não um deslocamento na curva dose-efeito (WOLFFGRAMM; HEYNE, 1995).

As características individuais (fatores genéticos, sexo, isolamento; ROBINSON; BERRIDGE, 1993; PHILLIPS; ROBERTS; LESSOV, 1997; WEISS et al., 2001) também parecem interferir com a susceptibilidade do indivíduo à sensibilização (por exemplo, uma dose da droga poderia provocar uma rápida e forte sensibilização em alguns indivíduos, enquanto que em outros não ocorreria o mesmo), porém os mecanismos relacionados a essas influências não estão elucidados.

Ainda há controvérsias a respeito do aumento da atividade locomotora em consequência da sensibilização psicomotora estar relacionado com a recompensa às drogas, enquanto que uns relatam resultados favoráveis (FAHLKE et al., 1995; ITZHAK; MARTIN, 1999), outros descrevem a existência de mecanismos neurobiológicos distintos (BAUCO; WANG; WISE, 1993; SOUZA-FORMIGONI et al., 1999; WOLFFGRAMM et al., 2000).

Diante disso, viu-se a necessidade de avaliar a influência de diferentes padrões de consumo desenvolvidos após o tratamento por livre escolha, visto que a caracterização do perfil de consumidor dependente nesse modelo é mais rigorosa, sobre a expressão da sensibilização ao efeito estimulante de uma dose desafio de etanol, a fim de permitir um maior esclarecimento sobre a relação entre o desenvolvimento de dependência e a expressão da sensibilização.

HIPÓTESE

Se os substratos neurais envolvidos nas propriedades reforçadoras e motivacionais do etanol são os mesmos, ou ao menos em parte, responsáveis pela expressão da sensibilização aos efeitos estimulantes do etanol teríamos que, os animais classificados como “dependentes” após serem submetidos a um paradigma de livre escolha, visando o desenvolvimento do comportamento de procura pelo etanol, apresentassem a maior atividade locomotora em resposta a uma dose desafio aguda de etanol.

2 OBJETIVOS

Geral:

1. Avaliar a influência do padrão de consumo de etanol em um modelo de livre escolha sobre a expressão da sensibilização ao efeito estimulante de etanol administrado de forma aguda.

Específicos:

1. Desenvolver um modelo animal de dependência de etanol para camundongos através do método por livre escolha num período de tempo relativamente curto.
2. Distinguir diferentes padrões de consumo, classificando os animais em consumidores dependentes e não dependentes.
3. Avaliar se padrões comportamentais do animal, observados através da atividade locomotora ou atividade exploratória e reação ao medo, podem exercer ou sofrer alguma influência do padrão de consumo do mesmo no modelo de livre escolha.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados sessenta (60) camundongos *Swiss* machos adultos pesando entre 20-30g, sem experiência anterior com nenhuma droga ou procedimento, provenientes do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR. Destes, vinte (20) animais foram utilizados no Experimento 1 para determinar a aversividade ao sabor da quinina e quarenta (40) foram utilizados nos Experimentos 2 a 5. Os animais foram alojados em gaiolas individuais (20x30x20 cm) desde o período de ambientação, mantidos em condições controladas de temperatura ($22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e luminosidade (ciclo de 12h claro/escuro, sendo que as luzes eram acesas a partir das 07:00h). Foram pesados uma vez por semana, e tinham livre acesso à ração. Os animais dos Experimentos 2 a 5 receberam números (01 a 40) de acordo com a posição da gaiola que ocupavam. Os procedimentos adotados para o tratamento e cuidado dos animais foram controlados e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Paraná.

3.2 DROGAS

No tratamento dos camundongos por livre escolha foi utilizado álcool etílico P.A. a 95% (laboratório VETEC) diluído a 10% (v/v) e a 5% (v/v) em água deionizada para administração por via oral. Para adulterar o sabor das soluções foi utilizado cloridrato de quinina na dose de 0,005g/L de acordo com Experimento 1 realizado para avaliar a aversividade ao sabor amargo de quinina. Para avaliar a atividade locomotora dos animais no final do tratamento de livre escolha foi usado álcool etílico absoluto P.A. (laboratório MERCK) diluído a 10% (p/v) em solução salina a 0,9% para administração intraperitoneal (i.p.).

3.3 MATERIAL

3.3.1 Aparelhos e procedimentos

Campo aberto: piso de madeira e paredes de aço escovado com 50 cm de altura delimitando uma área circular de 1 m de diâmetro sendo o assoalho pintado de branco, subdividido com linhas pretas traçadas através de dois círculos concêntricos com várias linhas radiais formando figuras semelhante a quadrados com aproximadamente 20 cm de lado. A 1 m acima do assoalho havia duas lâmpadas de 100 watts cada. Os camundongos foram colocados individualmente no centro da arena e observados por 3 minutos. Foram cronometrados o tempo que permaneceu parado ou imobilizado (*Freezing*) inicialmente no centro da arena, o tempo que permaneceu parado no decorrer do teste e o tempo que realizou sua autolimpeza (*Grooming*). Foram contadas o número de quadrados invadidos, caracterizando a ambulação do animal, o número de elevações (*Rearing*), ou seja, as vezes que o animal se apoiou nas patas traseiras assumindo a posição vertical e o número de bolos fecais no final do teste. Todas essas variáveis foram medidas em três ocasiões: antes do início do tratamento de livre escolha (teste basal), durante o período de abstinência de etanol e após o tratamento de livre escolha sob efeito de dose desafio de etanol para o teste de sensibilização. Além dessas, o número de vezes que o animal assumiu uma posição esticada horizontalmente (*Stretch Attend Postures*) tanto no centro como na periferia do aparelho foi observado durante a abstinência.

Labirinto em cruz elevado: feito em madeira e pintado com tinta óleo cor cinza, elevado 50 cm do piso, apresentando dois braços abertos e opostos medindo 50x10 cm cada, e cruzados perpendicularmente por outros dois braços do mesmo tamanho, porém fechados nas suas três faces externas com paredes de 40 cm de altura, possui uma área central de 10 cm² delimitada pelos quatro braços, a iluminação da sala de 1,5 m x 1,5 m era feita por uma lâmpada vermelha de 40 watts colocada a 120 cm acima do labirinto. Os camundongos foram colocados individualmente na área central do labirinto e observados por 3 minutos, sendo inicialmente a latência para entrar em um dos braços cronometrada. O tempo de

permanência tanto no braço aberto como no braço fechado foi cronometrado. O número de entradas no braço aberto e no fechado foi contado. Foi considerada uma entrada a partir do momento em que o animal colocava as quatro patas em um dos braços do labirinto. O tempo em que o animal permaneceu na área central do aparelho foi calculado a partir da diferença do tempo total de teste e a soma dos tempos de permanência nos braços. O número de bolos fecais foi contado no final do experimento. Todas essas variáveis foram medidas em três ocasiões: antes do início do tratamento de livre escolha (teste basal), durante o período de abstinência de etanol e após o tratamento de livre escolha sob efeito de dose desafio de etanol para o teste de sensibilização. Além dessas, durante o período de abstinência de etanol foi contado o número de vezes que o animal posicionou sua cabeça para fora do braço aberto realizando o movimento de espreita (*Head dipping*) e o número de vezes que o animal tentou entrar em um dos braços do labirinto apenas com as duas patas dianteiras assumindo uma postura esticada (*Stretch Attend Postures*). O número de elevações verticais (*Rearing*) e o tempo de autolimpeza (*Grooming*) também foram registrados para o braço fechado do labirinto.

Caixa de movimentação espontânea: a base de aço escovado e acrílico, medindo 60x20x30 cm, com três paredes em aço escovado sendo a anterior em acrílico transparente escuro, o assoalho é formado por barras de aço de 0,5 cm de diâmetro separadas entre si por 1 cm, teto de aço com tampa removível. O animal foi colocado no centro da caixa e observado por 3 minutos. Foram cronometrados o tempo de autolimpeza (*Grooming*) e o tempo que o animal permaneceu parado no decorrer do teste. Foram contados o número de elevações verticais (*Rearing*), o número de cruzamentos de três linhas imaginárias que dividiam o interior da caixa em três setores determinando a sua ambulação e o número de bolos fecais. Todas essas variáveis foram medidas em três ocasiões: antes do início do tratamento de livre escolha (teste basal), durante o período de abstinência de etanol e após o tratamento de livre escolha sob efeito de dose desafio de etanol para o teste de sensibilização.

Os testes sempre foram realizados no período claro do ciclo claro/escuro (14:00 às 18:00h).

3.4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.4.1 Experimento 1: Avaliação da Aversividade ao Sabor de Quinina

Um grupo de camundongos (Grupo 1, n=10) teve acesso à solução de quinina a 0,05g/L e outro grupo (Grupo 2, n=10) teve acesso à solução de quinina a 0,01g/L durante sete dias. Após essa semana os animais passaram por um período de 'depuração' ou 'limpeza' (sete dias) ficando sem as soluções de quinina. Depois desse período, o grupo 1 teve acesso à solução de quinina a 0,005g/L e o grupo 2 teve acesso à solução de quinina a 0,001g/L por mais sete dias. Ambos os grupos também tiveram acesso à água durante todo o experimento e o consumo das soluções era medido diariamente.

3.4.2 Experimento 2: Modelo de Dependência por Livre Escolha

Um grupo de camundongos (n=30) foi exposto a um tratamento por livre escolha durante doze semanas (fase de livre escolha), o qual teve acesso a três soluções sendo elas água, etanol a 5% (v/v), e etanol a 10%(v/v). Outro grupo de animais teve acesso apenas à água (grupo controle, n=10). Os volumes de todas as soluções eram medidos em dias alternados e a posição das garrafas era alterada frequentemente. Após essa fase as soluções etílicas foram retiradas por duas semanas (fase de abstinência). Depois da fase de abstinência, foram introduzidas novamente as soluções etílicas por mais duas semanas voltando a estabelecer o paradigma de livre escolha (fase de reapresentação). Ao término desse período, as soluções etílicas foram acrescidas de quinina 0,005g/L, conforme curva dose-resposta do Experimento 1, tornando-se amargas e foram ofertadas aos animais por mais três semanas (fase de adulteração), (esquema abaixo).

3.4.3 Experimento 3: Avaliação Comportamental Basal

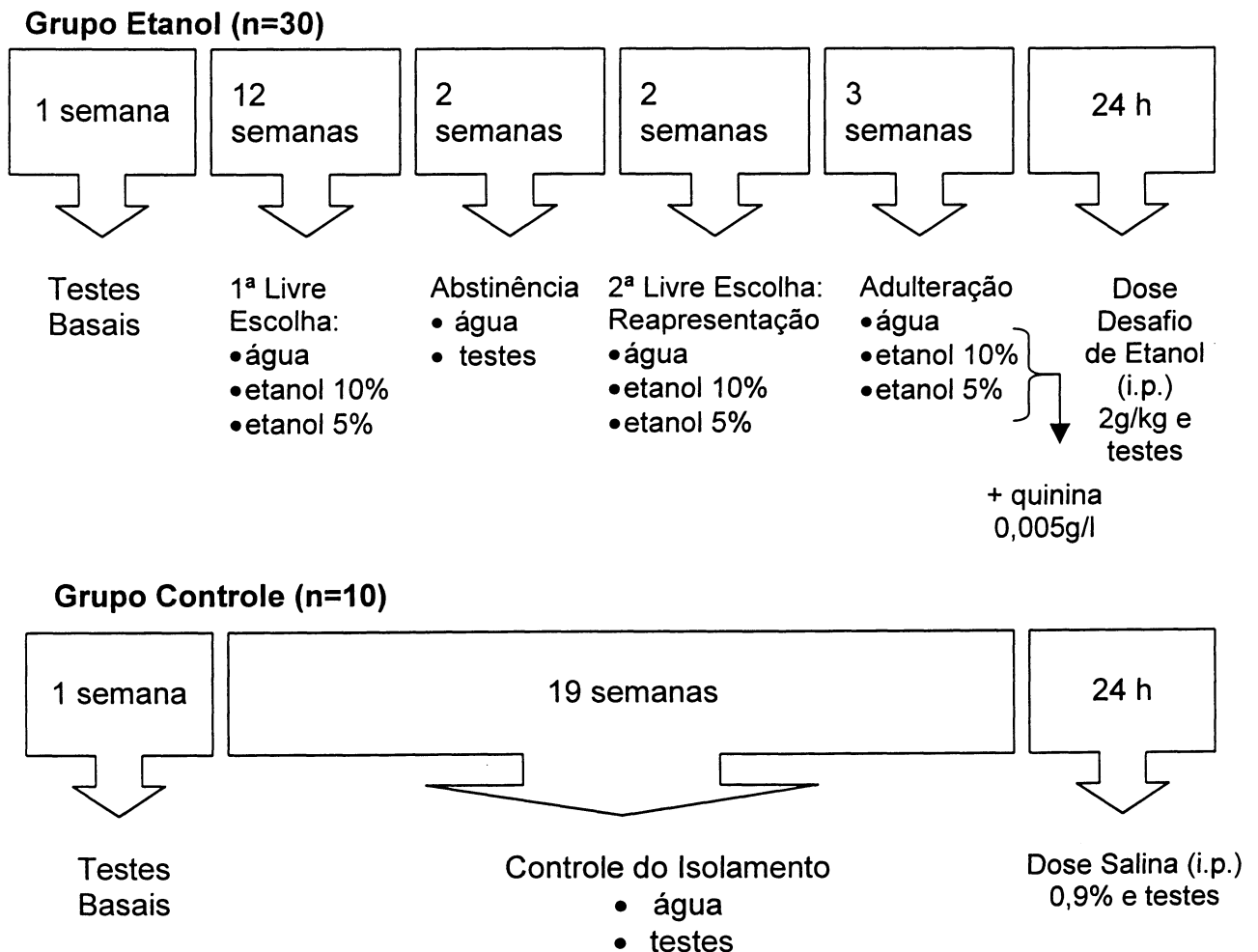
Após o período de ambientação de 5 dias foram realizados os primeiros testes comportamentais nos camundongos (teste basal), de acordo com os procedimentos descritos no item 3.3.1, e vinte e quatro horas após esses testes os animais foram condicionados em suas gaiolas individuais e expostos ao tratamento por livre escolha (esquema abaixo).

3.4.4 Experimento 4: Avaliação Comportamental na Abstinência

A segunda avaliação comportamental dos camundongos foi realizada com aproximadamente 5h de abstinência (teste na abstinência), sendo os animais novamente submetidos aos mesmos testes descritos no item 3.3.1, e em seguida foram alojados individualmente em suas gaiolas e mantidos sob o regime de abstinência (esquema abaixo).

3.4.5 Experimento 5: Avaliação da Expressão de Sensibilização ao Efeito Estimulante Agudo de Etanol

Vinte e quatro horas após o término do tratamento por livre escolha foi administrado i.p. etanol 10% (p/v) na dose de 2g/kg ao grupo que foi exposto ao paradigma de livre escolha e salina 0,9% i.p. ao grupo controle. Após dez minutos da injeção os animais foram expostos aos testes comportamentais descritos no item 3.3.1 (teste agudo). Por fim, os animais foram sacrificados (esquema abaixo).



3.5 CÁLCULO DA QUANTIDADE DE ETANOL INGERIDO

O peso corporal em gramas e a ingestão de etanol em mililitros foram usados para computar a quantidade de etanol ingerida em gramas por quilograma de peso corporal do animal (g/kg) aplicando-se a fórmula abaixo. Os coeficientes utilizados foram calculados a partir da densidade do álcool.

$$Q \text{ (g/kg/dia)} = (v10\% \times 0,075 + v5\% \times 0,0375) / p \times 1000$$

Q = quantidade de álcool consumida diariamente em g/kg do animal

v10% = volume consumido diariamente da solução de etanol a 10% (v/v)

v5% = volume consumido diariamente da solução de etanol a 5% (v/v)

p = peso do animal avaliado semanalmente

3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as medidas obtidas nos procedimentos experimentais foram testadas quanto à homogeneidade da variância e normalidade da distribuição. O consumo das soluções etílicas e de água foi expresso em média semanal. O consumo individual de etanol ou água foi analisado através de ANOVA com repetição para verificar se ocorreram alterações entre as diferentes fases experimentais para cada animal e permitir a classificação dos animais de acordo com seu padrão individual de consumo. Do período de tratamento inicial de doze semanas foram utilizadas as médias das últimas quatro semanas devido ao consumo nesse período apresentar-se mais estável sem as grandes variações observadas no início do tratamento. As comparações entre os grupos classificados como dependente (D), consumidor pesado (P), consumidor leve (L) e controle (C) foram feitas através de ANOVA de uma via seguida por teste de Newman-Keuls para as variáveis com distribuição normal e através de Kruskal-Wallis para as variáveis com distribuição não paramétrica. Para comparar as médias das medidas comportamentais obtidas em duas situações diferentes dentro do mesmo grupo foi utilizado teste t para amostras dependentes com distribuição normal e teste de Wilcoxon para as com distribuição

não paramétrica. Foram realizadas análises de correlação de Pearson para avaliar a relação entre consumo de etanol em diferentes fases experimentais e para avaliar a relação entre consumo de etanol e ambulação. Para comparar as proporções de animais sensibilizados entre os grupos e dentro do mesmo grupo foram feitos testes de Fisher e McNemar, respectivamente. O nível de significância mantido foi de no mínimo $p < 0,05$ e o programa de estatística usado foi o Stasoft-CSS.

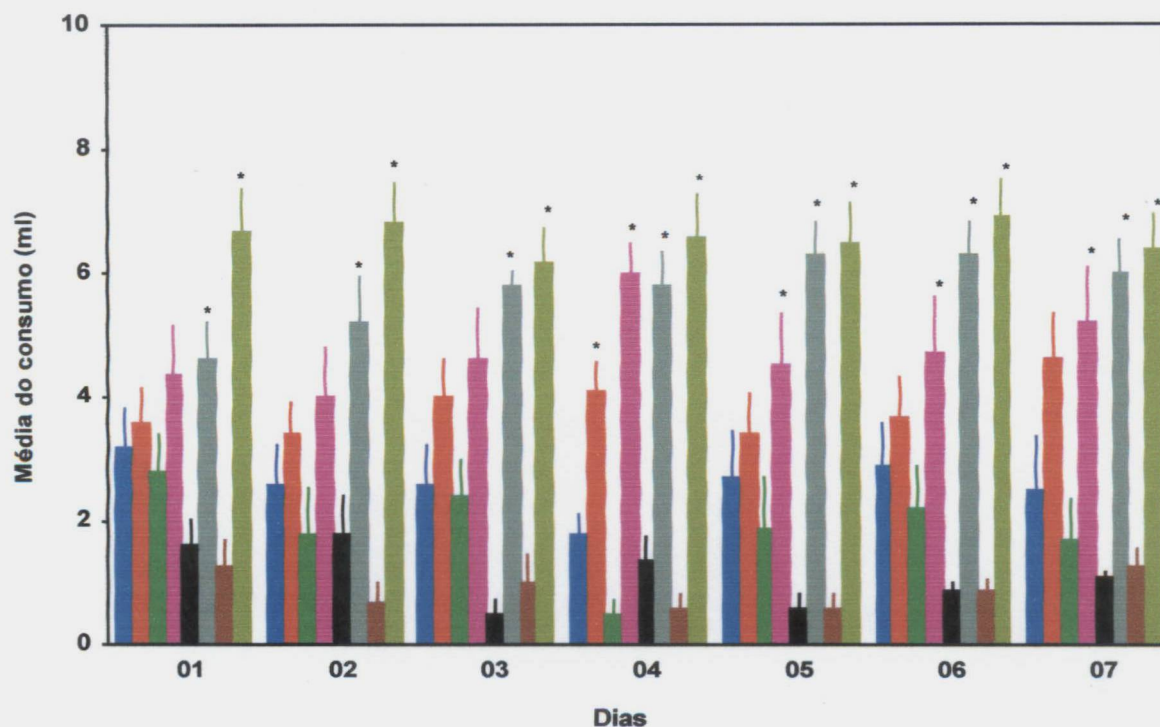
4 RESULTADOS

4.1 EXPERIMENTO 1: AVALIAÇÃO DA AVERSIVIDADE AO SABOR DE QUININA

Para as soluções com concentrações de 0,005 g/L e 0,001g/L de quinina, a ingestão da solução apesar de ter sido menor do que a de água permitiu que o animal continuasse a consumir a solução apesar do sabor aversivo, chegando a apresentar-se significativamente menor a partir do quarto dia de experimento para a solução a 0,005g/L ($t_4= 9,77$, $p<0,0001$; $t_5= 2,15$, $p<0,05$; $t_6= 2,17$, $p<0,05$; $t_7= 3,20$, $p<0,01$; teste t independente) e apenas no quarto dia para a solução a 0,001g/L ($t_4= 4,09$, $p<0,001$; teste t independente) (gráfico 1). Já o consumo da solução com o sabor adulterado com 0,01g/L ou 0,05g/L de quinina foi significativamente inferior ao consumo de água em todos os dias do tratamento ($t_1= 4,07$, $p<0,001$; $t_2= 3,54$, $p<0,01$; $t_3= 15,82$; $t_4= 6,44$; $t_5= 10,50$; $t_6= 10,25$; $t_7= 8,96$, $p<0,0001$; teste t independente) e ($t_1= 6,96$; $t_2= 8,21$; $t_3= 7,15$; $t_4= 8,15$; $t_5= 8,55$; $t_6= 9,51$; $t_7= 8,01$, $p<0,0001$; teste t independente), respectivamente.

A concentração de 0,005g/L de cloridrato de quinina se mostrou aversiva o suficiente para diminuir o consumo das soluções pelos animais sem inibi-lo quase que completamente como foi o observado nas concentrações maiores (0,01g/L e 0,05g/L). Assim, essa concentração foi escolhida para adulterar o sabor das soluções etílicas durante a fase de adulteração do tratamento por livre escolha.

GRÁFICO 1 – COMPARAÇÃO ENTRE CONSUMO DE ÁGUA E QUININA



NOTA: média \pm e.p. do volume consumido de água ou de solução adulterada com quinina em diferentes concentrações. Grupo 2: (■) consumo de solução de quinina 0,001g/L e (■) consumo de água; Grupo 1: (■) consumo de solução de quinina 0,005g/L e (■) consumo de água; Grupo 1: (■) consumo de solução de quinina 0,05g/L e (■) consumo de água. Grupo 2: (■) consumo de solução de quinina 0,01g/L e (■) consumo de água. *diferença entre o consumo diário das soluções (água e quinina) no mesmo grupo (no mínimo $p < 0,05$, teste t independente).

4.2 EXPERIMENTO 2: MODELO DE DEPENDÊNCIA POR LIVRE ESCOLHA

4.2.1 Padrão Geral de Consumo

Foram encontradas correlações positivas e significativas entre o consumo de etanol (g/kg) na fase de livre escolha (média das últimas quatro semanas) e o consumo de etanol (g/kg) na rerepresentação (média das duas semanas, figura 1A) e na adulteração (média das três semanas, figura 1B). A correlação entre consumo de etanol na fase de livre escolha e o consumo de água na abstinência (média das duas semanas em mL) foi positiva, mas não significativa (figura 1C).

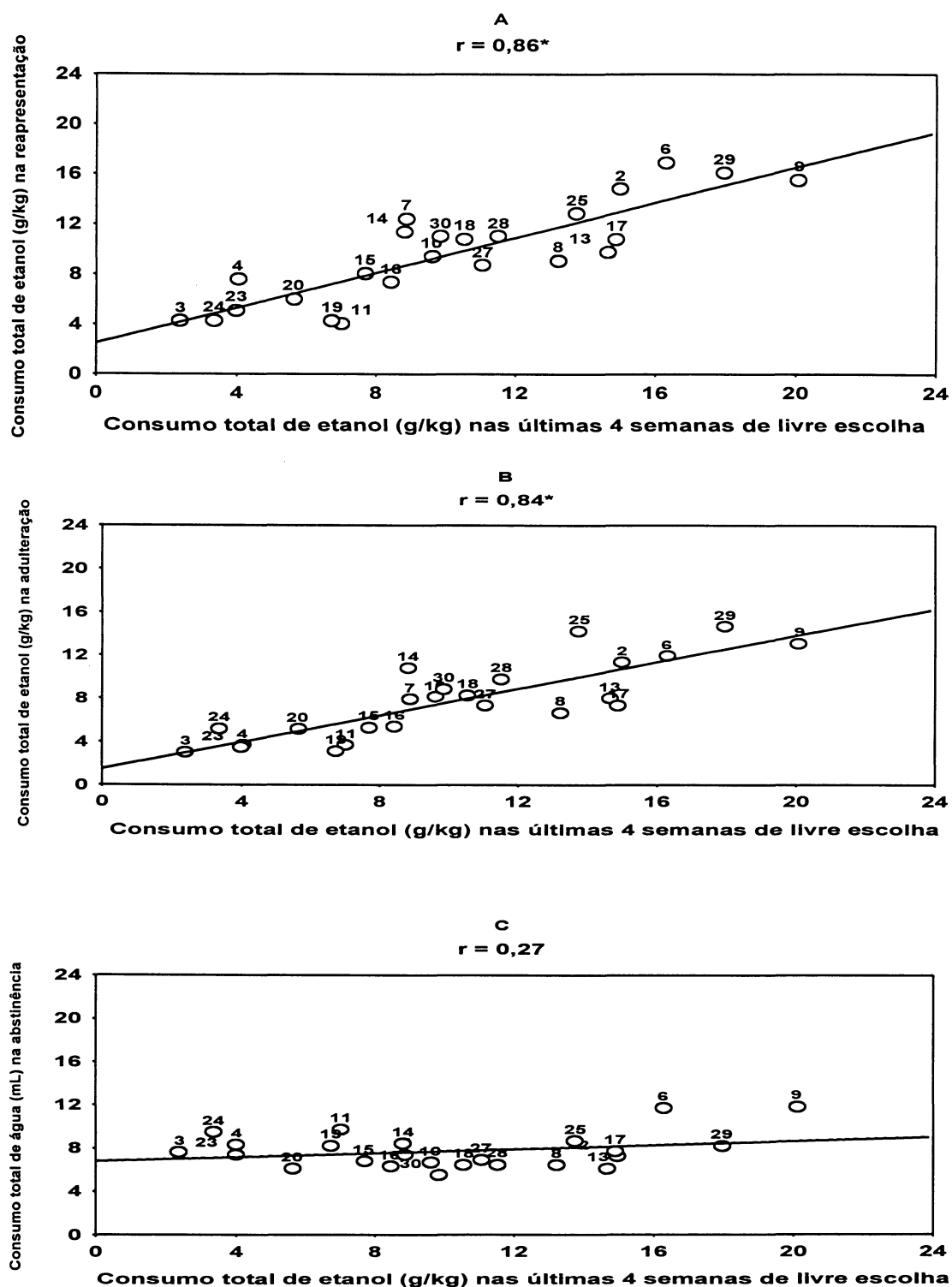


FIGURA 1 – CORRELAÇÃO ENTRE OS CONSUMOS NAS DIFERENTES FASES DE TRATAMENTO: correlações de Pearson entre a média do consumo de etanol nas últimas quatro semanas de livre escolha e a média do consumo das outras fases experimentais (A: fase de reapresentação; B: fase de adulteração; C: média do consumo de água na fase de abstinência) de todos os camundongos. *($p < 0,05$)

4.2.2 Padrão Individual de Consumo

Para distinguir os diferentes padrões de consumo dos camundongos foram seguidos dois principais critérios que são: o consumo individual de etanol (g/kg) entre as diferentes fases experimentais e a preferência entre as soluções (etílicas e água).

Não foram utilizadas todas as semanas da primeira fase de livre escolha para a média do consumo dessa fase devido a grande variabilidade apresentada pelos camundongos no início do tratamento, assim foi observado que nas últimas quatro semanas desse período o consumo foi mais estável permitindo melhor confiabilidade para análises posteriores. Então, as fases de consumo de etanol que foram comparadas entre si foram as seguintes: fase um “livre escolha” (últimas quatro semanas do primeiro período de livre escolha), fase dois “reapresentação” (duas semanas após a abstinência) e fase três “adulteração” (três semanas seguintes à fase de reapresentação).

A partir disso, os camundongos classificados em **consumidores com perfil de ‘dependente’ (D)**, foram os que apresentaram preferência pelas soluções etílicas e alto consumo de etanol sem redução significativa durante a fase de adulteração; ou **consumidores com perfil de não dependente ‘pesado’ (P)**, os que apresentaram preferência pelas soluções etílicas e alto consumo de etanol, porém com redução significativa ou na fase de reapresentação ou na de adulteração; ou **consumidores com perfil de não dependente ‘leve’ (L)**, os que apresentaram preferência pela água e baixo consumo de etanol com redução significativa do consumo ao longo das fases experimentais ou sem alterações.

Grupo de consumidores com perfil de ‘dependente’

As Figuras 2 a 7 representam os padrões de consumo individual para os camundongos classificados como ‘dependentes’. Na parte superior de cada figura (A) estão os gráficos dos volumes das soluções consumidas (água, etanol 5% e etanol 10%) e o volume total de etanol (soma dos volumes das soluções etílicas). Na região intermediária (B), pode-se observar o gráfico do consumo de etanol (g/kg) e de água (mL). Na parte inferior (C), observa-se o gráfico das médias do consumo de etanol (g/kg) para cada fase experimental (últimas quatro semanas da livre escolha, duas semanas de reapresentação e três semanas de adulteração).

Seis animais apresentaram esse perfil (07, 14, 25, 28, 29 e 30). Nos animais desse grupo, o consumo de etanol (g/kg) se mostrou relativamente alto (entre 9,73g e 16,28g) no decorrer do tratamento e não reduziu significativamente durante a adulteração (figuras 2 a 7 porção C). Além disso, todos apresentaram preferência pelas soluções etílicas sendo que a porcentagem do consumo das soluções etílicas em relação ao volume total de líquido consumido foi significativamente maior do que a de água. Os valores obtidos através das comparações pelo teste t para amostras independentes entre a porcentagem de água e etanol consumido para cada animal são: $t_7= 5,96$, $t_{14}= 23,50$, $t_{25}= 36,58$, $t_{28}= 23,09$, $t_{29}= 60,67$ e $t_{30}= 18,71$, $p<0,0001$, teste t independente. Outra característica importante foi o aumento significativo no consumo de água durante as semanas de abstinência em relação às outras semanas do experimento observado em todos os animais desse grupo (comparações entre as médias do consumo de água entre as fases de tratamento para cada animal: $F_{07}(3,72)= 33,34$; $F_{14}(3,72)= 103,68$; $F_{25}(3,72)= 67,04$; $F_{28}(3,72)= 56,64$; $F_{29}(3,72)= 443,19$; $F_{30}(3,72)= 60,96$, $p<0,0001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

Em todos os animais desse grupo foi observada uma interação significativa entre tempo de tratamento e consumo das soluções ofertadas (etílicas e água), ($F_{07}(48,303)= 10,32$; $F_{14}(48,303)= 18,36$; $F_{25}(48,303)= 10,88$; $F_{28}(48,303)= 2,47$; $F_{29}(48,303)= 5,76$; $F_{30}(48,303)= 5,49$, $p<0,0001$; ANOVA de duas vias).

A média do consumo das soluções etílicas do **camundongo 07** nas semanas iniciais do tratamento apresentou grandes variações e foi se tornando mais estável nas últimas semanas de livre escolha e nas das fases experimentais subseqüentes ($F_{\text{etanol}10\%}(16,101)= 5,11$; $F_{\text{etanol}5\%}(16,101)= 6,35$; $F_{\text{etanol}total}(16,101)= 3,30$, $p<0,0001$). A partir da décima semana, o consumo de etanol 10% passou a ser maior do que o das demais soluções, e essa preferência perdurou até a fase de reapresentação. A média do consumo de água da fase de adulteração foi significativamente maior do que a das fases anteriores com exceção da abstinência. A média do consumo de etanol (g/kg) na fase de reapresentação mostrou um aumento significativo em relação às outras fases ($F_{07}(2,59)= 19,12$, $p<0,0001$) (figura 2).

Para o **camundongo 14** o consumo se mostrou mais estável desde o início do tratamento, sem grandes oscilações. A média do consumo de etanol total

apresentou uma queda significativa na nona semana de tratamento em relação as outras semanas do experimento, como reflexo de uma diminuição no consumo de etanol 5% ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 11,74, p<0,0001$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 12,9, p<0,0001$). Já as médias do consumo de etanol 10% foram baixas por quase todo o tratamento e juntamente com as de água apresentaram-se significativamente maiores na quinta semana de tratamento quando comparadas com as médias das demais semanas ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 3,4, p<0,0001$), e o consumo de água foi diminuindo ao longo do experimento, onde a média do consumo da fase de adulteração foi significativamente menor do que a das últimas quatro semanas de livre escolha e reapresentação. A média do consumo de etanol (g/kg) das últimas quatro semanas de livre escolha foi significativamente menor do que o das fases seguintes ($F_{14}(2,59)= 13,35, p<0,0001$) (figura 3).

O **camundongo 25** manifestou uma preferência pela solução de etanol 10% durante quase todas as semanas de tratamento, sendo que as médias de seu consumo a partir da sétima semana de tratamento foram significativamente maiores do que as das semanas anteriores ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 32,28, p<0,0001$). As médias de seu consumo de etanol 5% foram estáveis e aumentaram durante a fase de adulteração ($F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 4,63, p<0,0001$). As médias semanais do consumo diário de água ao longo das fases eram baixas, só ultrapassando o das outras soluções na terceira e quarta semanas do experimento onde as médias do consumo das soluções etílicas foram significativamente menores do que as das demais semanas ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 7,32, p<0,0001$). A média do consumo de etanol (g/kg) referente à fase de adulteração foi significativamente maior do que o das fases anteriores ($F_{25}(2,59)= 3,21, p<0,05$) (figura 4).

As médias do consumo de etanol total do **camundongo 28** aumentaram entre a quarta e sexta semanas como reflexo de um aumento do consumo de etanol 10% ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 3,39$; $F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)=3,53, p<0,0001$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 1,44, p>0,05$). O consumo de etanol 5% foi inferior ao consumo de etanol 10% em várias semanas da fase de livre escolha, porém as médias de seu consumo passaram a ser maiores do que as de etanol 10% nas fases seguintes a abstinência. O consumo de água se mostrou baixo por quase todo o tratamento. Não foram encontradas diferenças significativas entre as médias de consumo de etanol (g/kg) nas diferentes fases do tratamento ($F_{28}(2,59)= 3,47, p<0,05$) (figura 5).

As médias do consumo de etanol 10% do **camundongo 29** foram altas e estáveis por todo o experimento, refletindo em médias maiores do consumo de etanol total ($F_{\text{etanol}10\%}(16,101)=4,96$, $p<0,0001$; $F_{\text{etanol}total}(16,101)=3,08$, $p<0,001$). As médias do consumo de etanol 5% foram mais altas nas primeiras semanas do experimento e na segunda semana da fase de reapresentação ($F_{\text{etanol}5\%}(16,101)=7,81$, $p<0,0001$). Já o consumo de água foi baixo durante todo o tratamento. A média do consumo de etanol (g/kg) durante as últimas quatro semanas de livre escolha foi significativamente maior do que a das fases seguintes, porém não foi observada queda significativa no consumo durante a fase de adulteração quando comparado com a fase anterior ($F_{29}(2,59)=13,41$, $p<0,0001$) (figura 6).

O consumo de etanol do **camundongo 30** foi alto e estável no transcorrer do experimento, demonstrado através de suas médias semanais de consumo ($F_{\text{etanol}total}(16,101)=3,5$, $p<0,0001$). A média do consumo de etanol 5% na última semana da fase de adulteração superou significativamente quase todas as das semanas anteriores, e a média do consumo de etanol 10% na décima segunda semana de tratamento também se mostrou significativamente maior do que a maioria das demais semanas do experimento ($F_{\text{etanol}5\%}(16,101)=4,40$; $F_{\text{etanol}10\%}(16,101)=4,92$, $p<0,0001$). O consumo de água foi baixo apresentando uma elevação na quinta semana de tratamento e sofrendo uma queda na última semana da fase de adulteração. O padrão de consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 28, ou seja, sem alterações significativas ao longo do tratamento ($F_{30}(2,59)=2,53$, $p>0,05$) (figura 7).

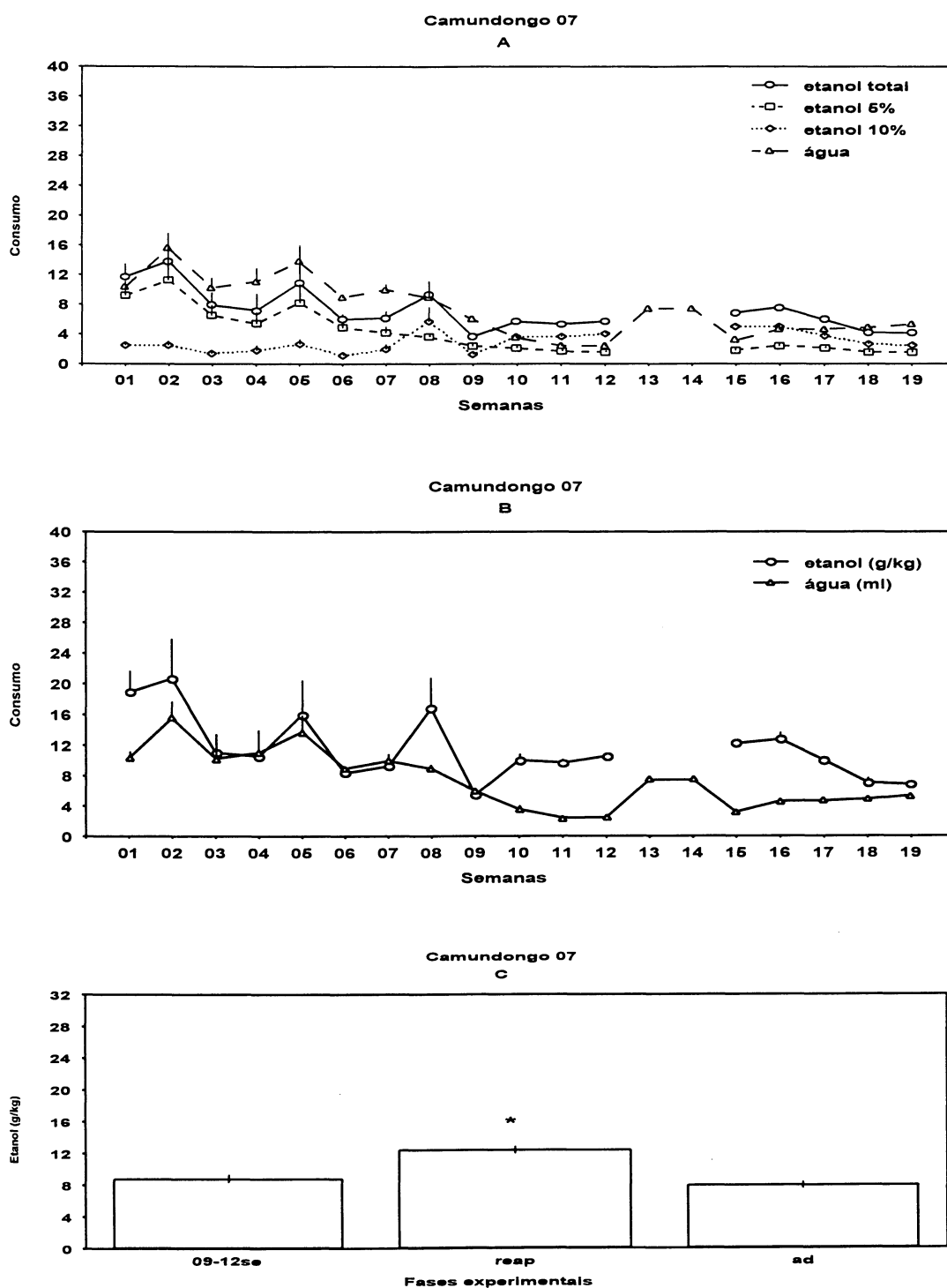


FIGURA 2 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 07: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo D: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reop) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

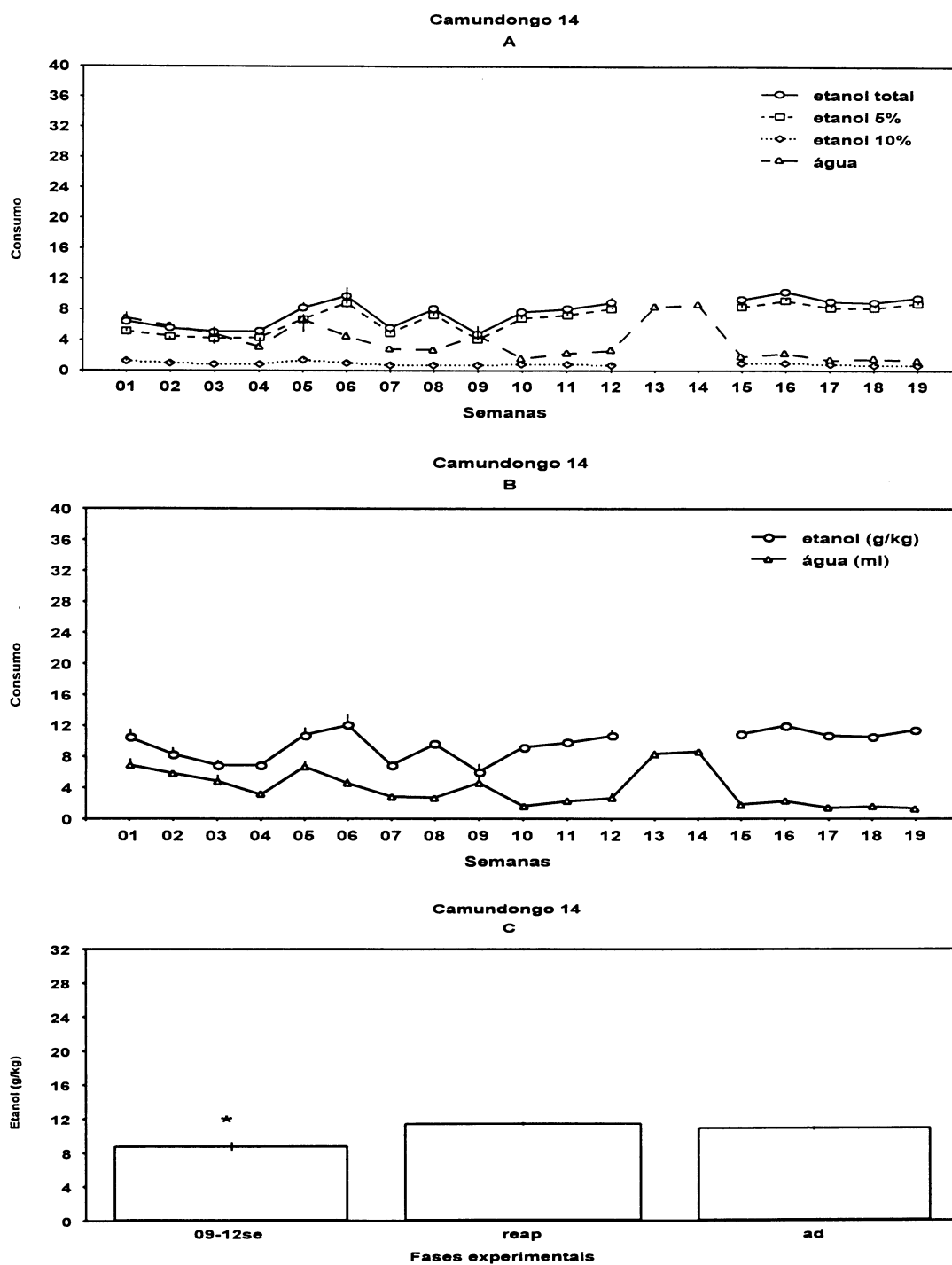


FIGURA 3 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 14: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo D: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

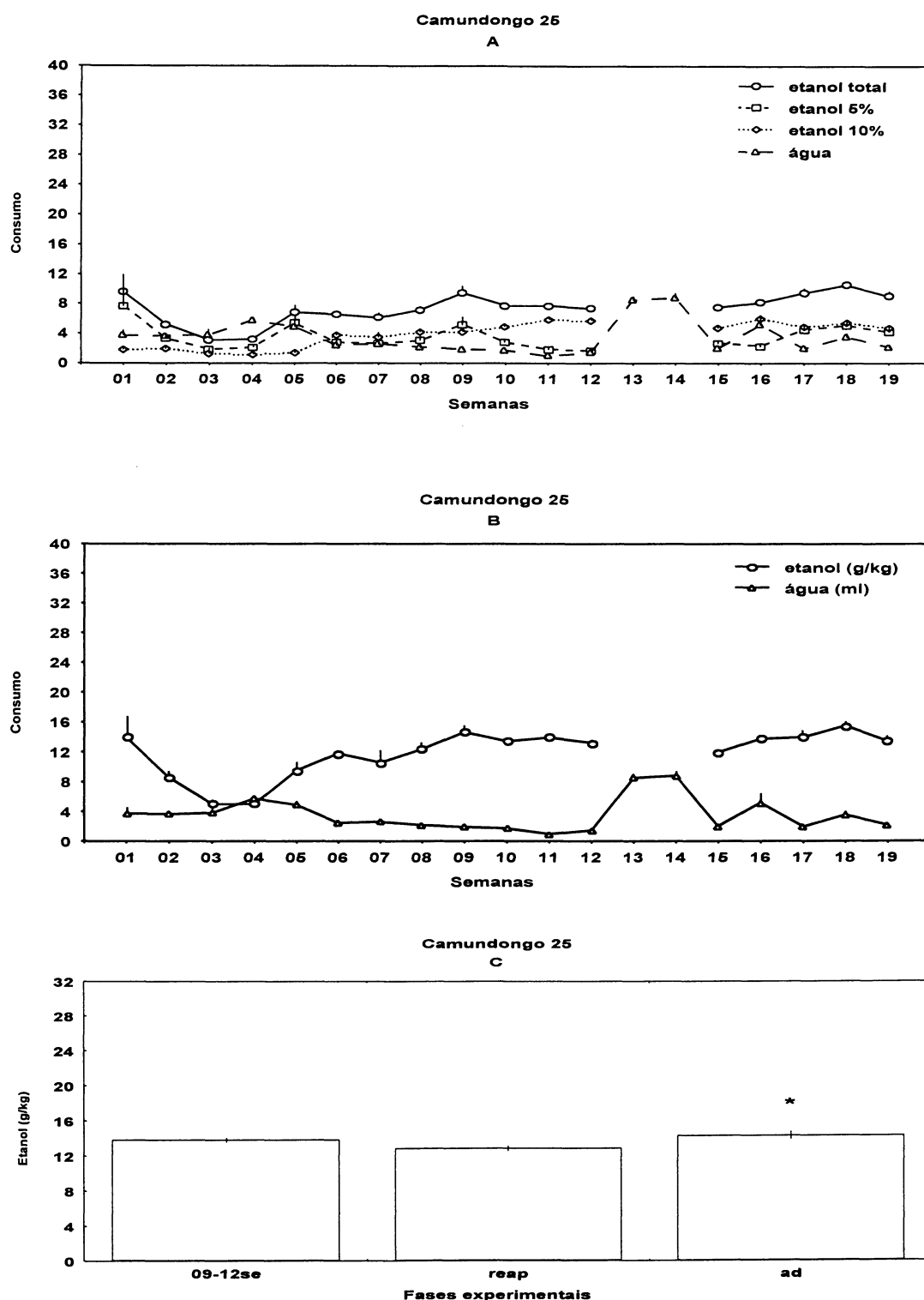


FIGURA 4 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 25: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo D: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

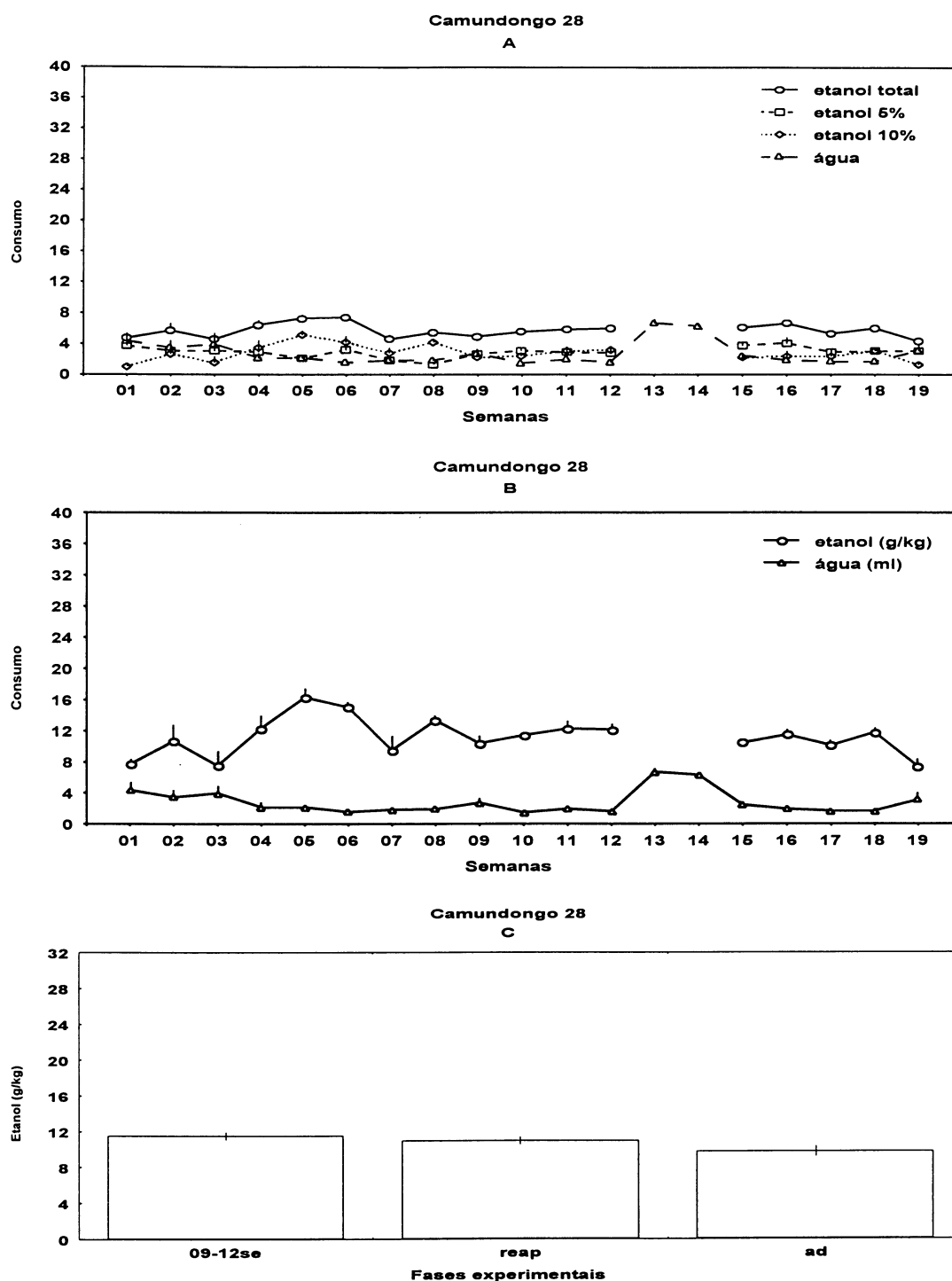


FIGURA 5 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 28: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo D: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

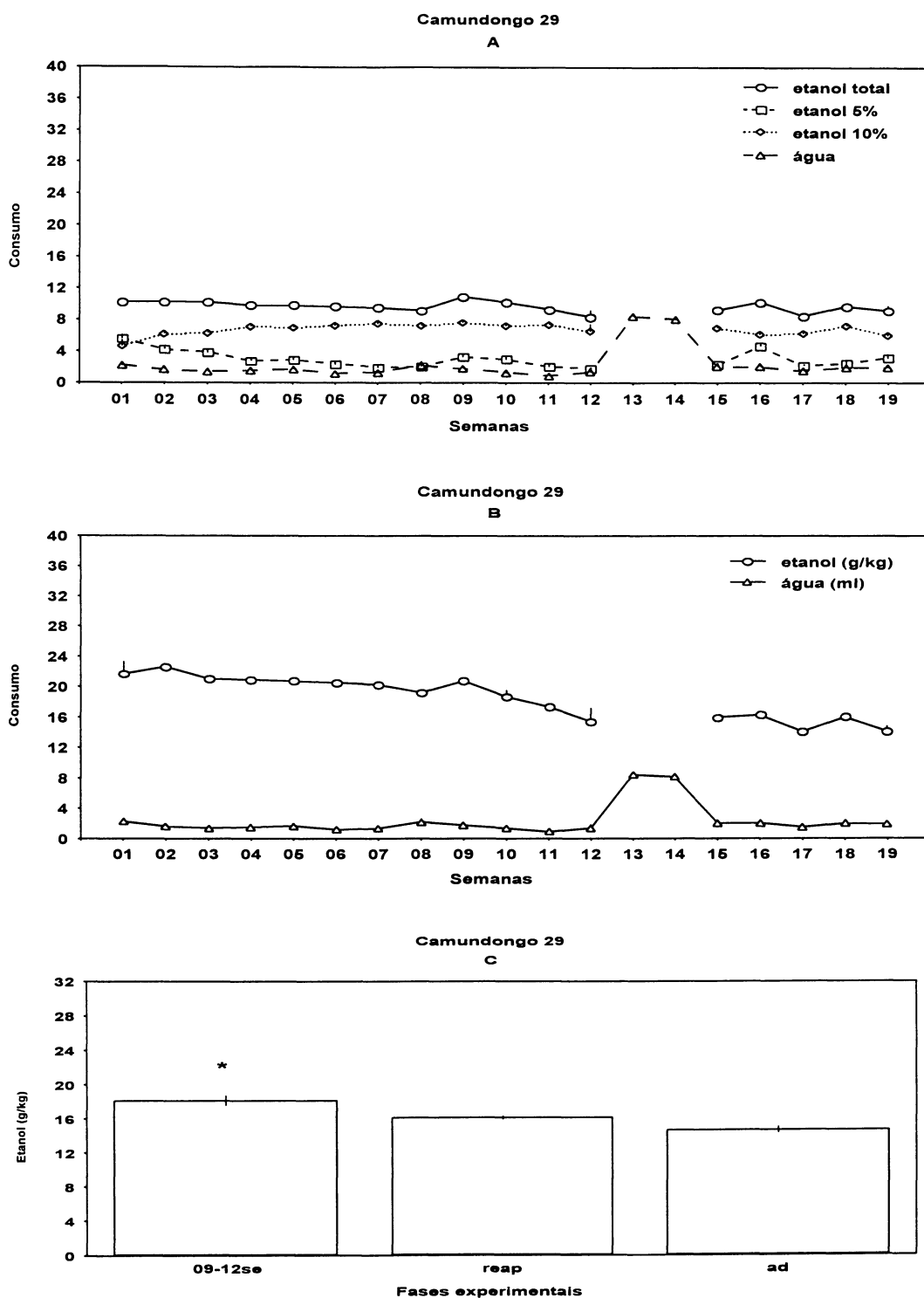


FIGURA 6 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 29: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo D: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

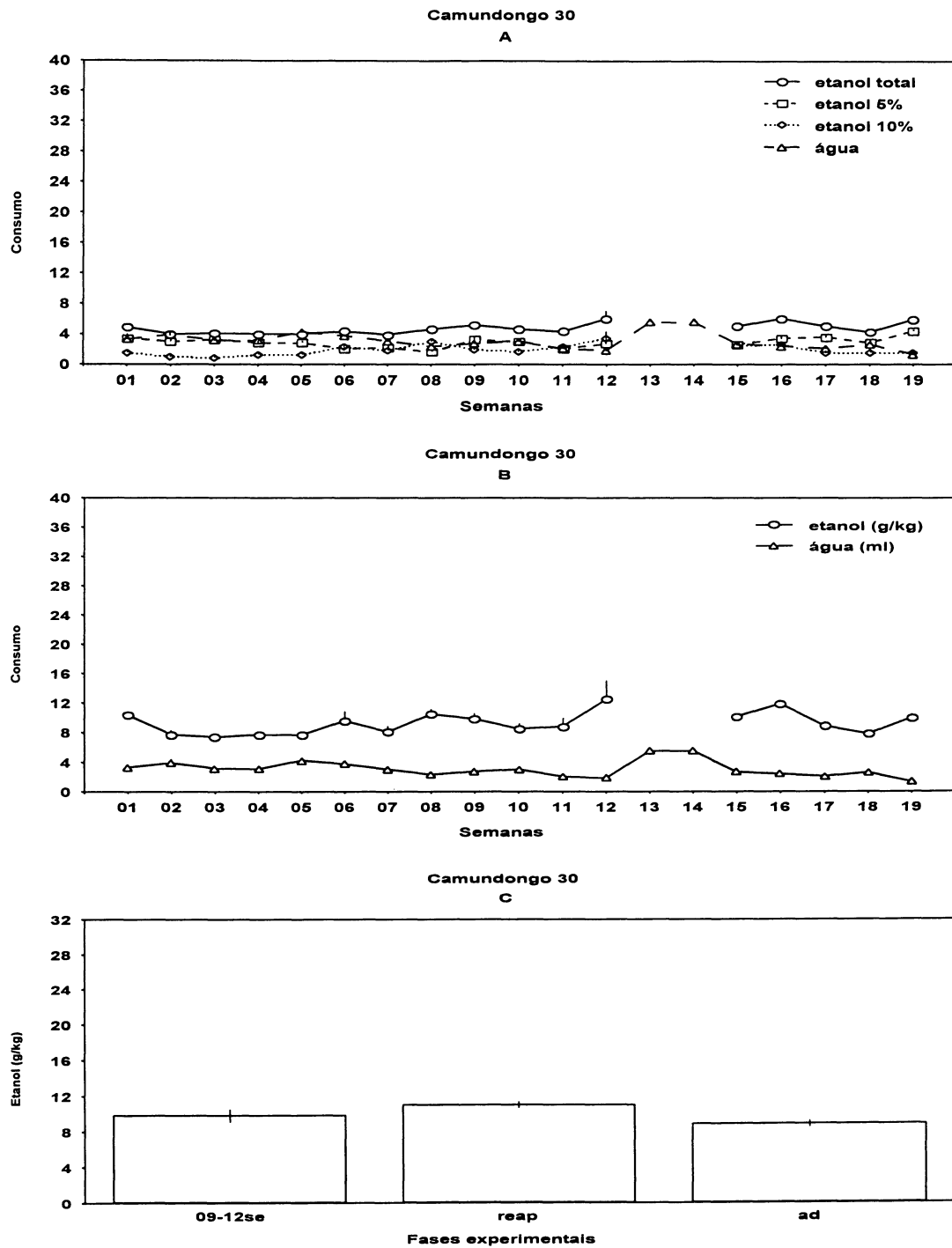


FIGURA 7 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 30: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo D: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

Grupo de consumidores com perfil de não dependente 'pesado'

As Figuras 8 a 18 representam os padrões de consumo para os camundongos classificados como não dependentes com consumo 'pesado'. Na parte superior (A) de cada figura estão os gráficos dos volumes das soluções consumidas (água, etanol 5% e etanol 10%) e o volume total de etanol (soma dos volumes das soluções etílicas). Na região intermediária (B), pode-se observar o gráfico do consumo de etanol (g/kg) e de água (mL). Na parte inferior (C), observa-se o gráfico das médias do consumo de etanol (g/kg) para cada fase experimental (últimas quatro semanas da livre escolha, duas semanas de reapresentação e três semanas de adulteração).

Onze animais apresentaram esse perfil (02, 06, 08, 09, 10, 13, 15, 16, 17, 18 e 27). Nos animais desse grupo, o consumo de etanol (g/kg) se mostrou relativamente alto (entre 7,03g e 16,26g) durante o tratamento, porém reduziu significativamente durante a adulteração (figuras 8 a 18 porção C). Nesse grupo todos os animais também apresentaram preferência pelas soluções etílicas sendo a porcentagem do consumo das soluções etílicas em relação ao volume total de líquido consumido significativamente maior do que a de água, cujos valores de "t" para as comparações entre porcentagem de água e etanol consumido para cada animal foram: $t_2= 74,06$, $t_6= 26,42$, $t_8= 23,46$, $t_9= 39,38$, $t_{10}= 26,37$, $t_{13}= 18,51$, $t_{15}= 8,86$, $t_{16}= 9,84$, $t_{17}= 12,90$, $t_{18}= 5,90$, $t_{27}= 58,29$, $p<0,0001$, teste t independente. Os animais desse grupo também apresentaram um aumento significativo no consumo de água durante as semanas de abstinência em relação às outras semanas do experimento (comparações entre as médias do consumo de água entre as fases de tratamento para cada animal: $F_{02(3,72)}= 301,44$; $F_{06(3,72)}= 367,66$; $F_{08(3,72)}= 96,41$; $F_{09(3,72)}= 551,06$; $F_{10(3,72)}= 87,82$; $F_{13(3,72)}= 20,01$; $F_{15(3,72)}= 29,55$; $F_{16(3,72)}= 20,01$; $F_{17(3,72)}= 83,87$; $F_{18(3,72)}= 10,30$; $F_{27(3,72)}= 278,64$, $p<0,0001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

Também foi observada uma interação significativa entre tempo de tratamento e consumo das soluções ofertadas (etílicas e água) nos animais desse grupo, ($F_{02(48,303)}= 9,29$, $p<0,0001$; $F_{06(48,303)}= 5,32$, $p<0,0001$; $F_{08(48,303)}= 5,80$, $p<0,0001$; $F_{09(48,303)}= 17,75$, $p<0,0001$; $F_{10(48,303)}= 5,13$, $p<0,0001$; $F_{13(48,303)}= 8,71$, $p<0,0001$; $F_{15(48,303)}= 1,86$, $p<0,001$; $F_{16(48,303)}= 1,62$, $p<0,01$;

$F_{17}(48,303)= 6,71$, $p<0,0001$; $F_{18}(48,303)= 4,72$, $p<0,0001$; $F_{27}(48,303)= 8,50$, $p<0,0001$; ANOVA de duas vias).

O **camundongo 02** apresentou instabilidade no consumo durante as primeiras semanas de tratamento, se tornando mais estáveis com o passar do tempo. Apresentou preferência por etanol 10% comparado com etanol 5%. As médias semanais de consumo de etanol total e etanol 10% apresentaram um aumento significativo na oitava semana do experimento em relação a todas as outras semanas ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 3,47$, $p<0,0001$; $F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 2,85$, $p<0,001$). Inicialmente as médias do consumo de etanol 5% eram relativamente altas, sofrendo uma redução ao longo das semanas de tratamento ($F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 7,12$, $p<0,0001$). O padrão de consumo de água foi similar ao do etanol 5% durante todo o experimento. Apesar da média do consumo de etanol (g/kg) ter sido alta durante todas as semanas de tratamento, apresentou uma queda significativa na fase de adulteração em relação às demais fases ($F_{02}(2,59)= 45,29$, $p<0,0001$) (figura 8).

Para o **camundongo 06** as médias do consumo de etanol total apresentaram grande variabilidade e na oitava semana o consumo foi significativamente maior do que a maioria das outras semanas ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 3,86$, $p<0,0001$). Em algumas semanas do experimento o consumo de etanol 10% superou o consumo das demais soluções, e a média da oitava semana se mostrou significativamente maior em relação às demais semanas ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 6,95$, $p<0,0001$). O consumo de etanol 5% foi diminuindo ao longo das semanas do experimento ($F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 4,32$, $p<0,0001$) e o consumo de água sofreu um aumento significativo na fase de adulteração. O padrão do consumo de etanol (g/kg) apresentou-se similar ao do camundongo 02 ($F_{06}(2,59)= 11,35$, $p<0,0001$) (figura 9).

O consumo do **camundongo 08** mostrou muitas alterações no início do experimento, contudo a partir da nona semana apresentou-se mais estável. Na segunda semana de tratamento, as médias do consumo de etanol total e etanol 5% foram significativamente maiores do que as das demais semanas ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 5,08$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 5,60$, $p<0,0001$). O consumo de água foi baixo ao longo do experimento. Na oitava semana foi observado um aumento significativo na média do consumo de etanol 10% em relação a maioria das semanas (1^a, 3^a, 4^a, 6^a, 9^a, 11^a, 15^a, 16^a, 17^a, 18^a e 19^a) ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 3,60$, $p<0,0001$). As médias do consumo

de etanol (g/kg) referente às últimas quatro semanas de livre escolha, semanas de reapresentação e semanas de adulteração foram altas, porém mostraram uma redução significativa do consumo ao longo do tratamento ($F_{08}(2,59)=57,41$, $p<0,0001$) (figura 10).

O **camundongo 09** possuía um consumo de etanol total alto decorrente de sua ingestão de etanol 10%, cujas médias de consumo passaram a diminuir após a fase de abstinência ($F_{\text{etanol total}}(16,101)=16,36$; $F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 28,00$, $p<0,0001$). Durante as semanas da fase de reapresentação, as médias do consumo de etanol 5% se mostraram significativamente maiores quando comparadas com as demais semanas ($F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 9,81$, $p<0,0001$). O consumo de água foi baixo, no entanto aumentou significativamente na fase de adulteração. O padrão do consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 08 ($F_{09}(2,59)= 60,67$, $p<0,0001$) (figura 11).

O **camundongo 10** não apresentou alterações significativas ao longo das semanas nas médias do consumo de etanol total, etanol 10% e etanol 5% ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 3,26$; $F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 6,31$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 4,58$, $p<0,0001$). A média do consumo de água foi baixa durante todo o experimento. O padrão do consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 02 ($F_{10}(2,59)= 4,36$, $p<0,05$) (figura 12).

O **camundongo 13** apresentou um aumento nas médias do consumo de etanol total e etanol 5% na sexta e décima primeira semanas de experimento em relação às demais semanas ($F_{\text{etanol total}}(16,101)=15,95$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 15,35$, $p<0,0001$). Já as médias do consumo de etanol 10% foram baixas, porém com um aumento significativo apenas na quinta semana de tratamento em relação às outras ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 4,04$, $p<0,0001$). O consumo de água foi baixo ao longo do tratamento. O padrão do consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 08 ($F_{13}(2,59)= 65,69$, $p<0,0001$) (figura 13).

Para o **camundongo 15** as médias do consumo de etanol total e etanol 10% na oitava semana do experimento foram significativamente maiores do que as das demais semanas ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 4,03$, $p<0,0001$; $F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 3,14$, $p<0,001$). Já o consumo de etanol 5% não apresentou alterações significativas ao longo do tratamento ($F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 2,10$, $p<0,01$). O consumo médio de água se mostrou baixo no decorrer do tratamento. O consumo de etanol (g/kg) foi

relativamente baixo, mas seu padrão foi similar ao apresentado pelo camundongo 08 ($F_{15}(2,59) = 16,39, p < 0,0001$) (figura 14).

O consumo do **camundongo 16** apresentou-se estável, praticamente sem alterações significativas entre suas médias semanais dos consumos de etanol total, etanol 5% e etanol 10% ($F_{\text{etanol total}}(16,101) = 4,04, p < 0,001$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101) = 2,60, p < 0,01$; $F_{\text{etanol 10\%}}(16,101) = 2,49, p < 0,01$). A média da quinta semana do consumo de água se apresentou significativamente maior do que as três semanas antes e todas as semanas seguintes à fase de abstinência. A média do consumo de etanol (g/kg) foi relativamente baixa quando comparada com a dos outros animais desse grupo e o seu padrão de consumo foi similar ao do camundongo 02 ($F_{16}(2,59) = 14,60, p < 0,0001$) (figura 15).

As médias do consumo de etanol total do **camundongo 17** na sexta e sétima semanas foram significativamente maiores do que as das demais semanas, e depois começou a declinar. Esse aumento foi reflexo do consumo de etanol 10% que passou a aumentar a partir da quarta semana, sendo as médias da sexta e sétima semanas também significativamente maiores do que as das outras. ($F_{\text{etanol total}}(16,101) = 12,68$; $F_{\text{etanol 10\%}}(16,101) = 7,72, p < 0,0001$). Seu consumo de etanol 5% praticamente não apresentou alterações significativas ao longo do experimento, exceto para a nona semana cuja média do consumo foi significativamente maior do que algumas semanas do experimento (3^a, 4^a, 5^a, 12^a, 17^a, 18^a e 19^a), ($F_{\text{etanol 5\%}}(16,101) = 4,23, p < 0,0001$). As médias do consumo de água das fases posteriores à abstinência foram significativamente maiores do que a da primeira fase de livre escolha. Seu padrão de consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 08 ($F_{17}(2,59) = 40,46, p < 0,0001$) (figura 16).

As médias dos consumos de etanol total e etanol 5% do **camundongo 18** na quarta semana foram significativamente menores do que algumas semanas do experimento (11^a, 12^a, 14^a e 15^a) ($F_{\text{etanol total}}(16,101) = 3,89$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101) = 3,55, p < 0,0001$). O consumo de etanol 10% foi baixo e praticamente suas médias semanais de consumo não apresentaram alterações significativas no decorrer do experimento ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101) = 1,97, p < 0,05$). A média do consumo de água durante a fase de reapresentação foi significativamente menor do que a das demais fases. O padrão de consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 02 ($F_{18}(2,59) = 3,72, p < 0,05$) (figura 17).

O **camundongo 27** apresentou uma consumo de etanol estável ao longo do tratamento apenas com uma diminuição significativa na média do consumo de etanol total da quarta semana em relação a algumas semanas do experimento (5^a, 6^a, 8^a, 9^a, 10^a, 11^a, 12^a e 16^a) ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 5,25, p<0,0001$). As médias da terceira e quarta semanas do consumo de etanol 5% foram significativamente menores do que a maioria das semanas do experimento (2^a, 5^a, 6^a, 11^a, 12^a, 15^a, 16^a, 17^a, 18^a e 19^a), já a média do consumo da décima sexta semana se mostrou significativamente maior do que a maioria das semanas do tratamento ($F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 8,35, p<0,0001$). As médias do consumo de etanol 10% a partir da primeira semana da fase de reapresentação foram significativamente menores do que as das anteriores ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 11,04, p<0,0001$). A média do consumo de água da fase de reapresentação foi significativamente maior do que a das demais fases com exceção da fase de abstinência. O padrão de consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 08 ($F_{27}(2,59)= 66,67, p<0,0001$) (figura 18).

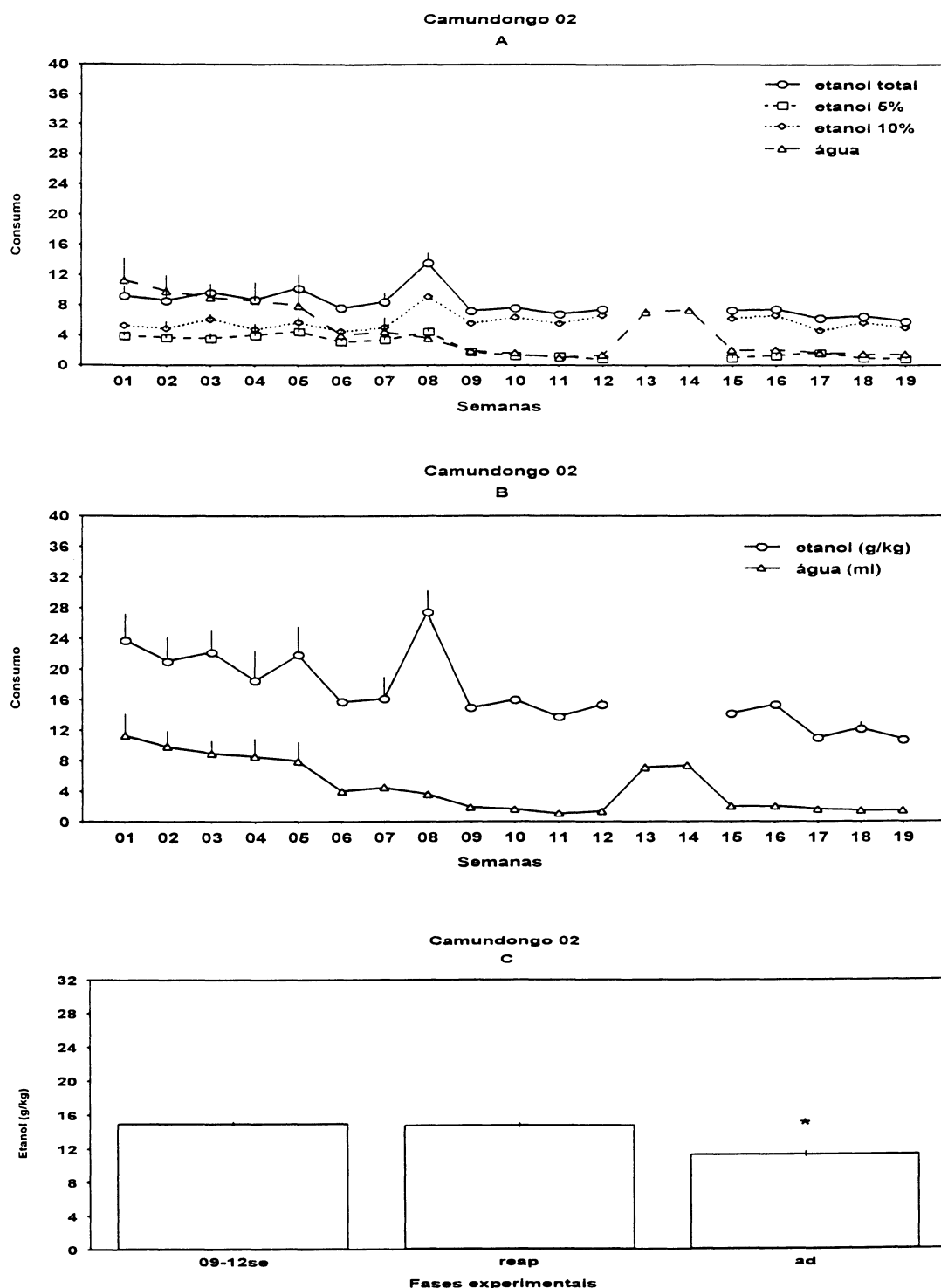


FIGURA 8 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 02: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

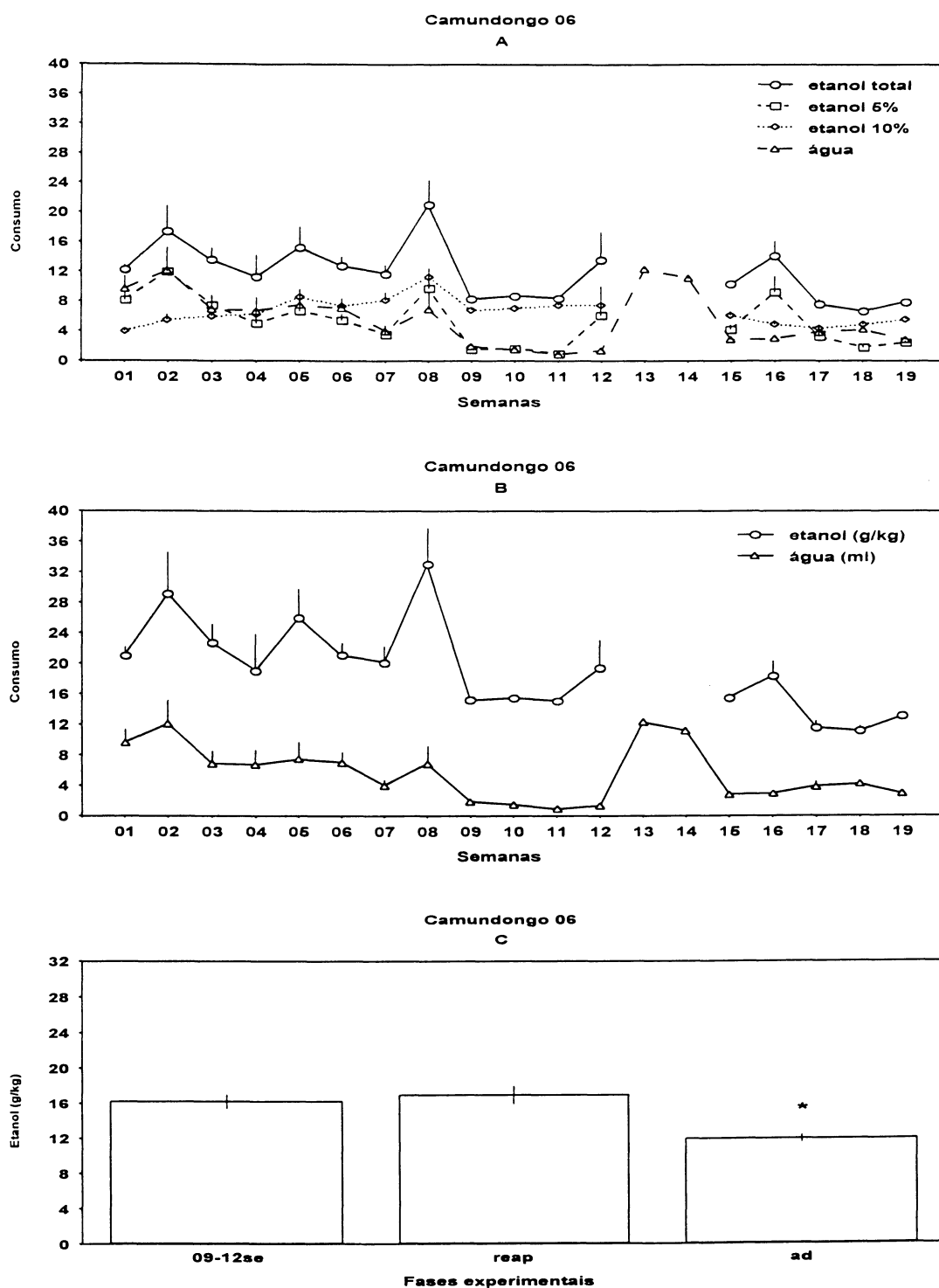


FIGURA 9 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 06: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

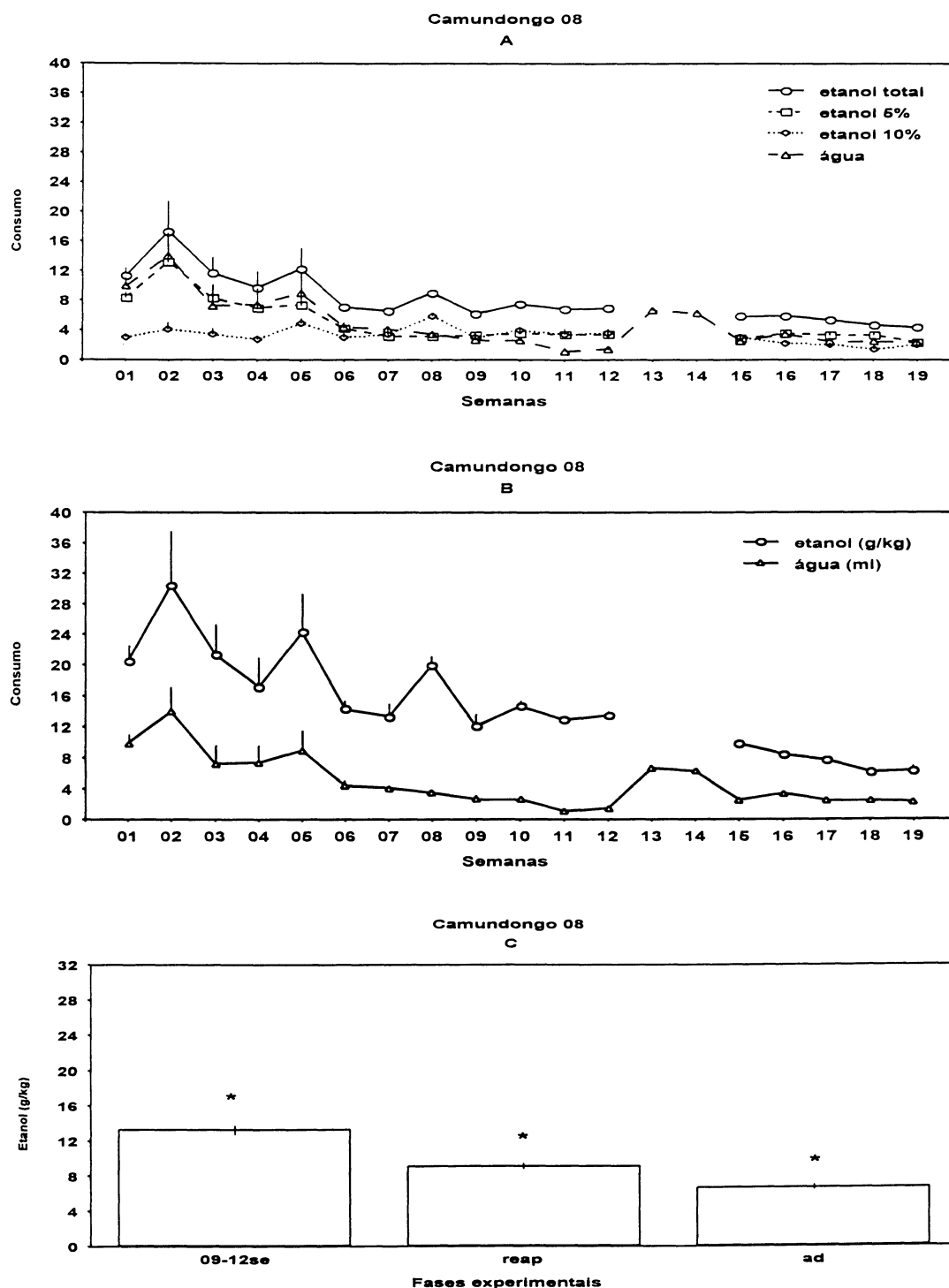


FIGURA 10 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 08: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: A: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); B: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; C: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

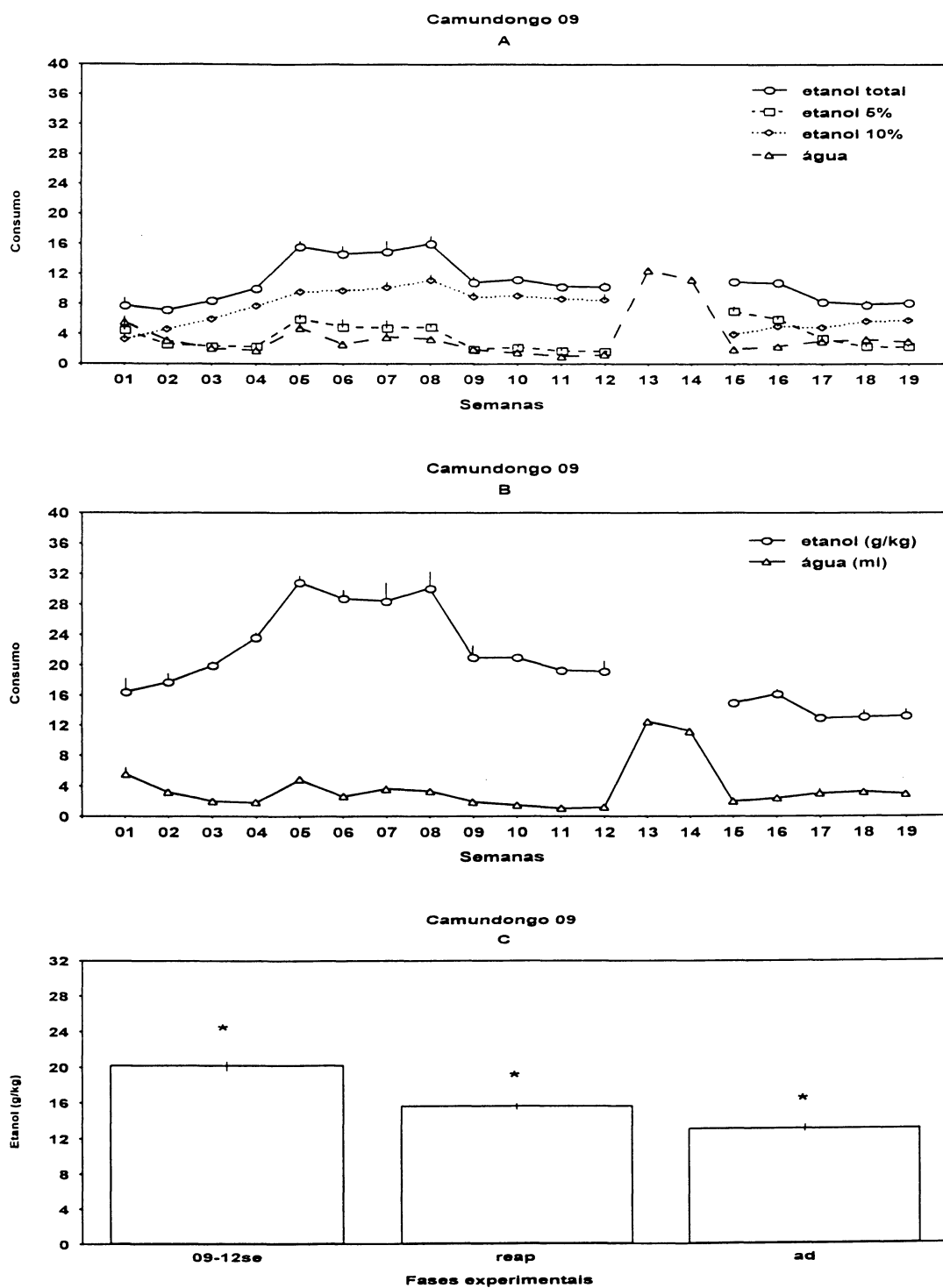


FIGURA 11 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 09: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

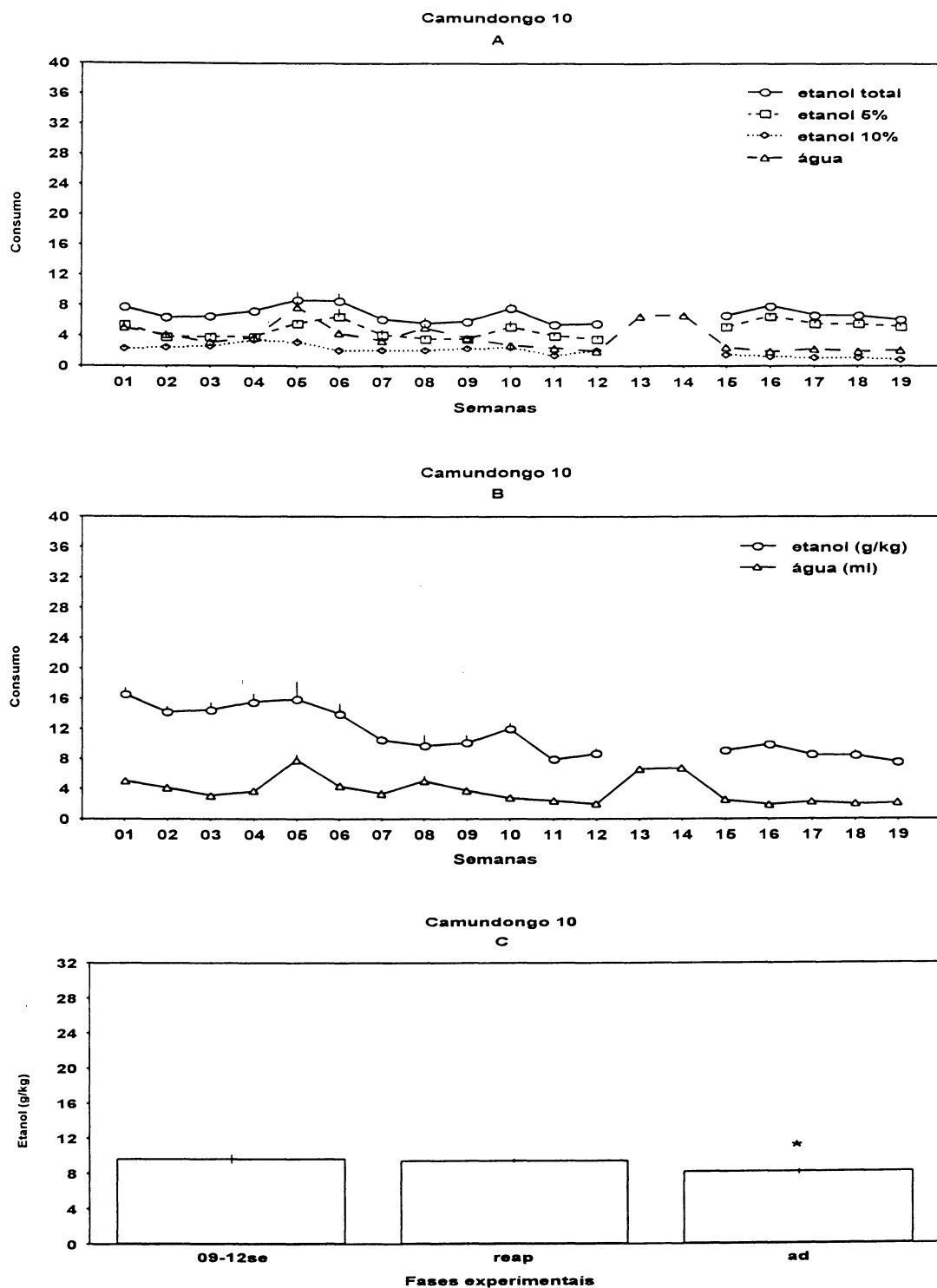


FIGURA 12 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 10: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

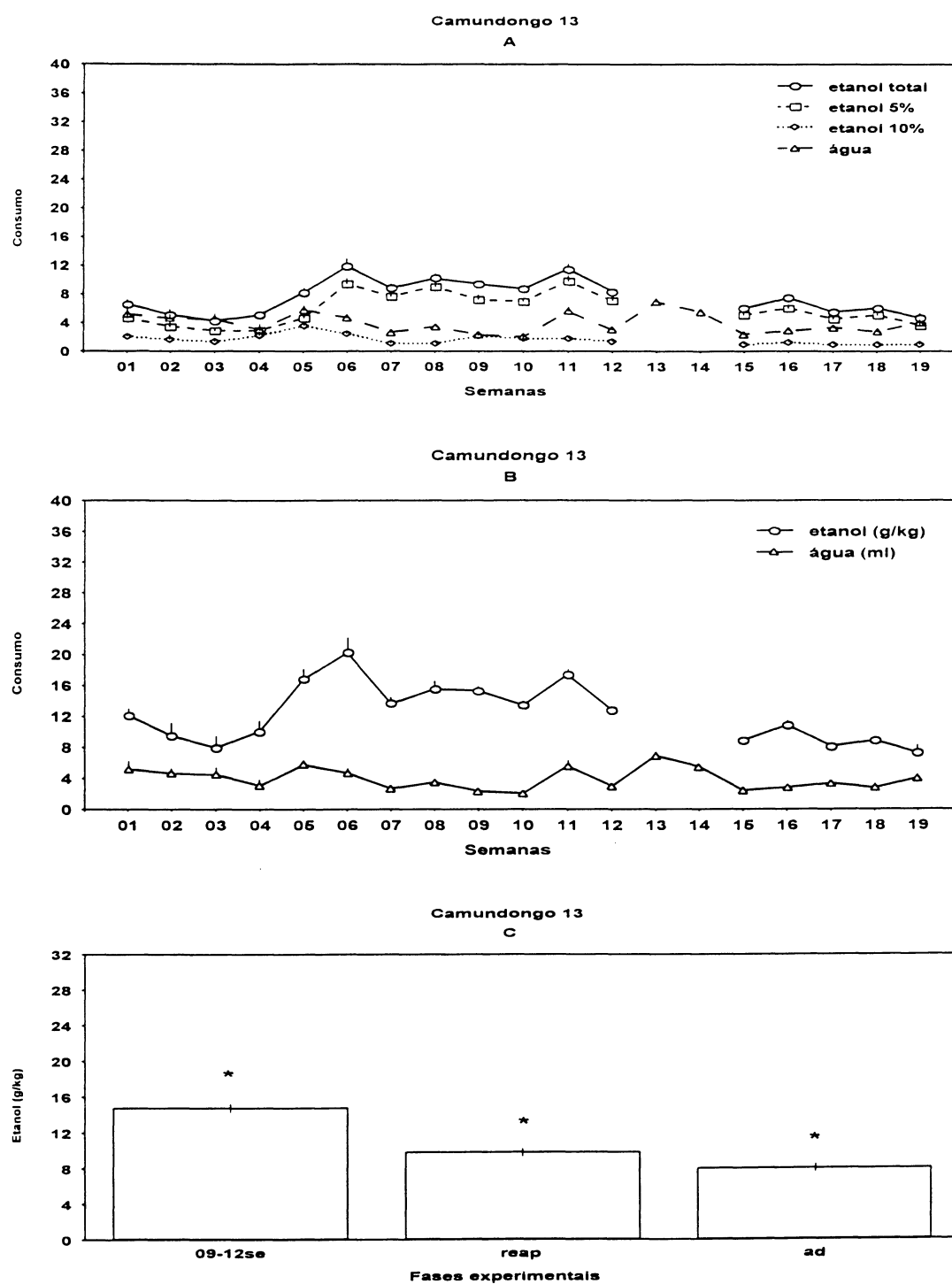


FIGURA 13 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 13: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

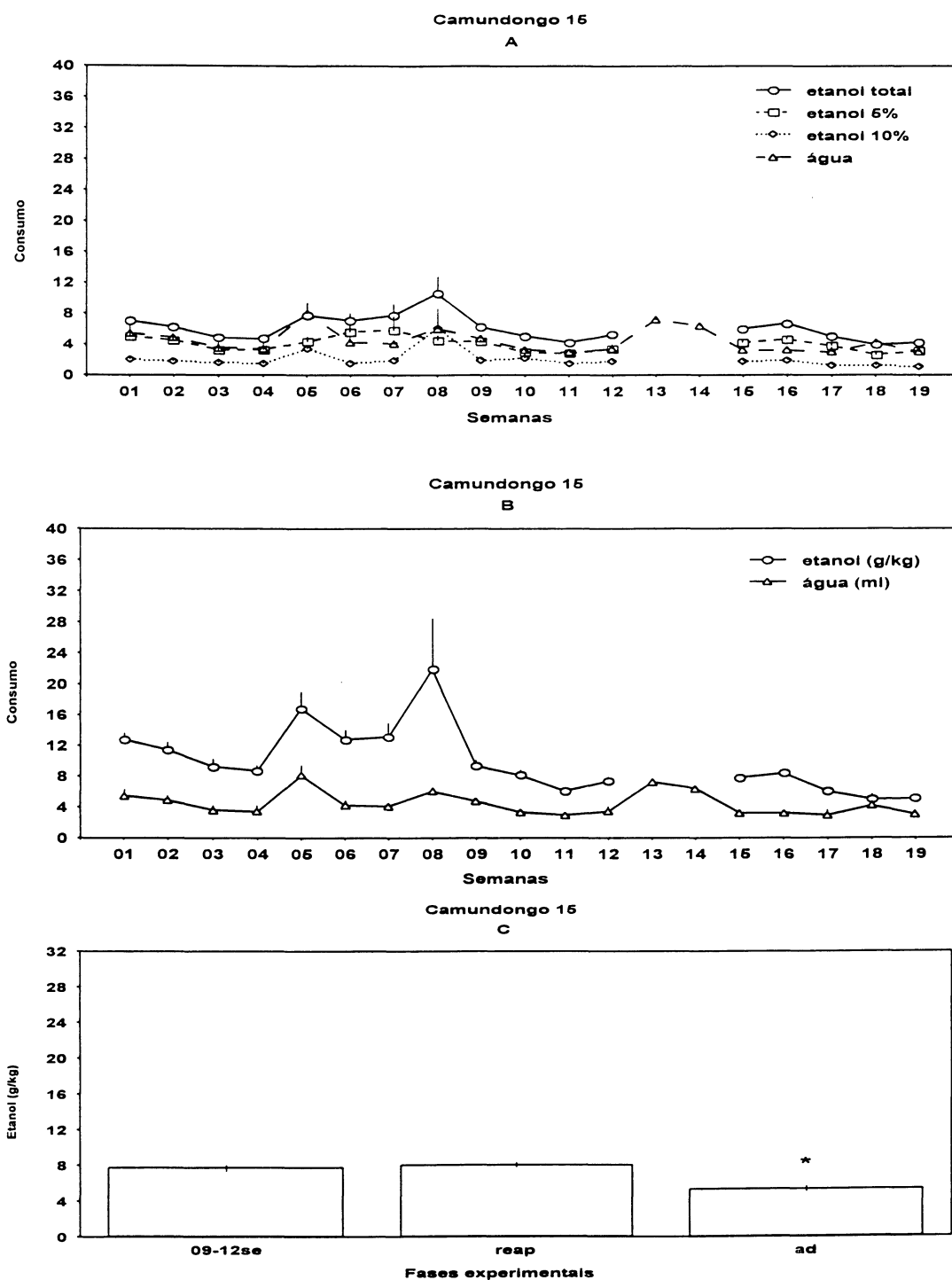
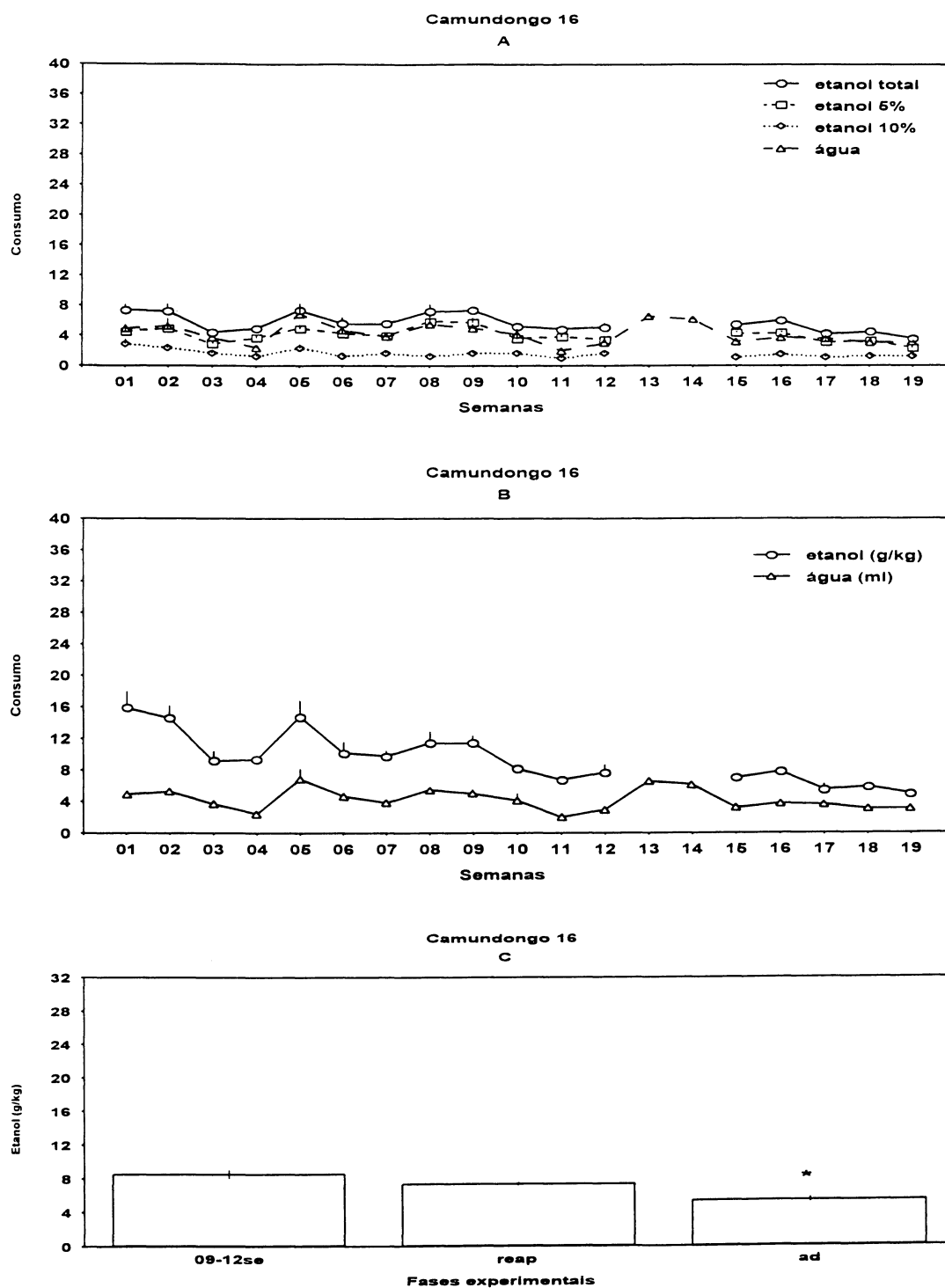


FIGURA 14 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 15: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)



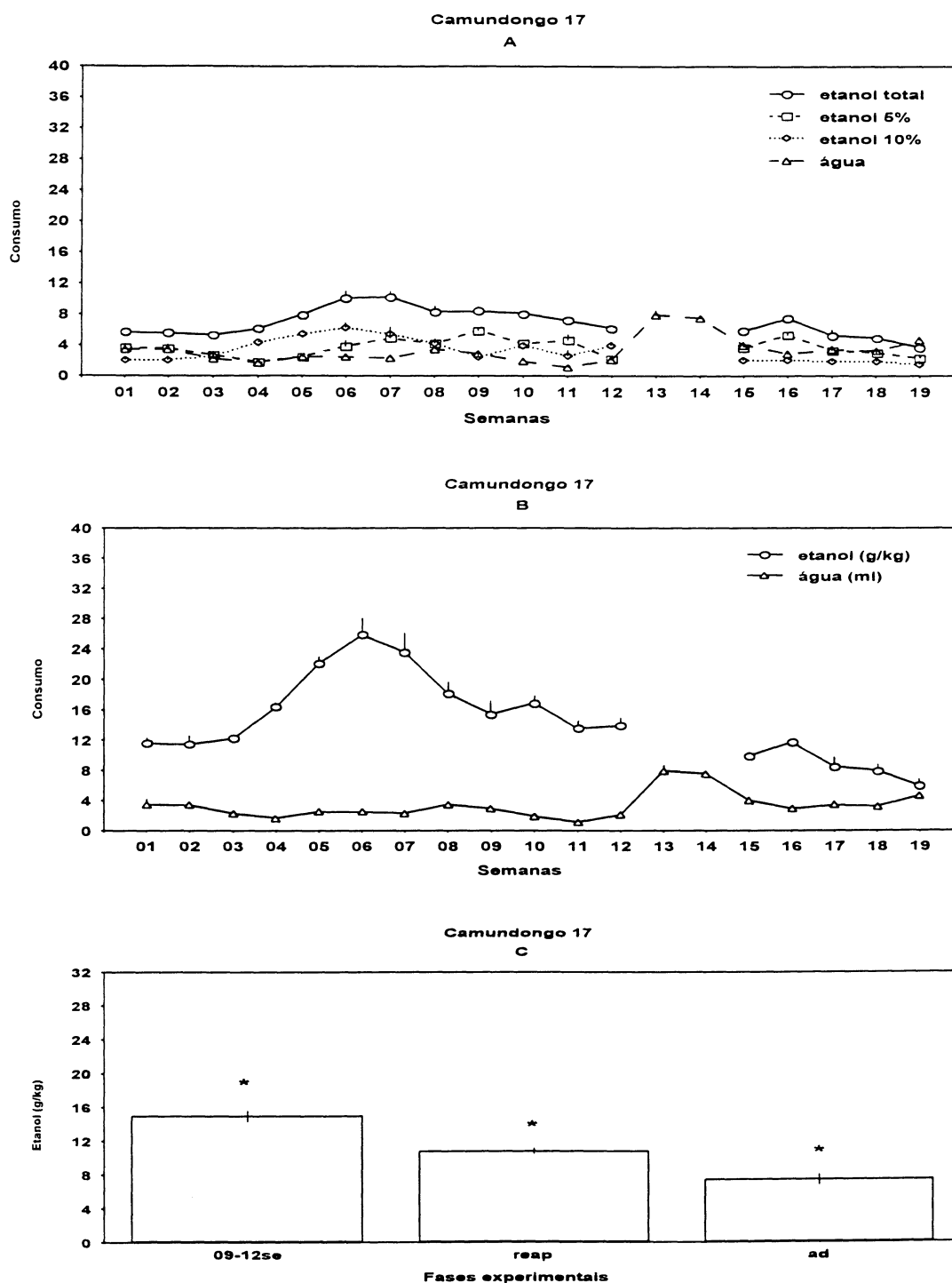


FIGURA 16 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 17: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A:** média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B:** média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C:** média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

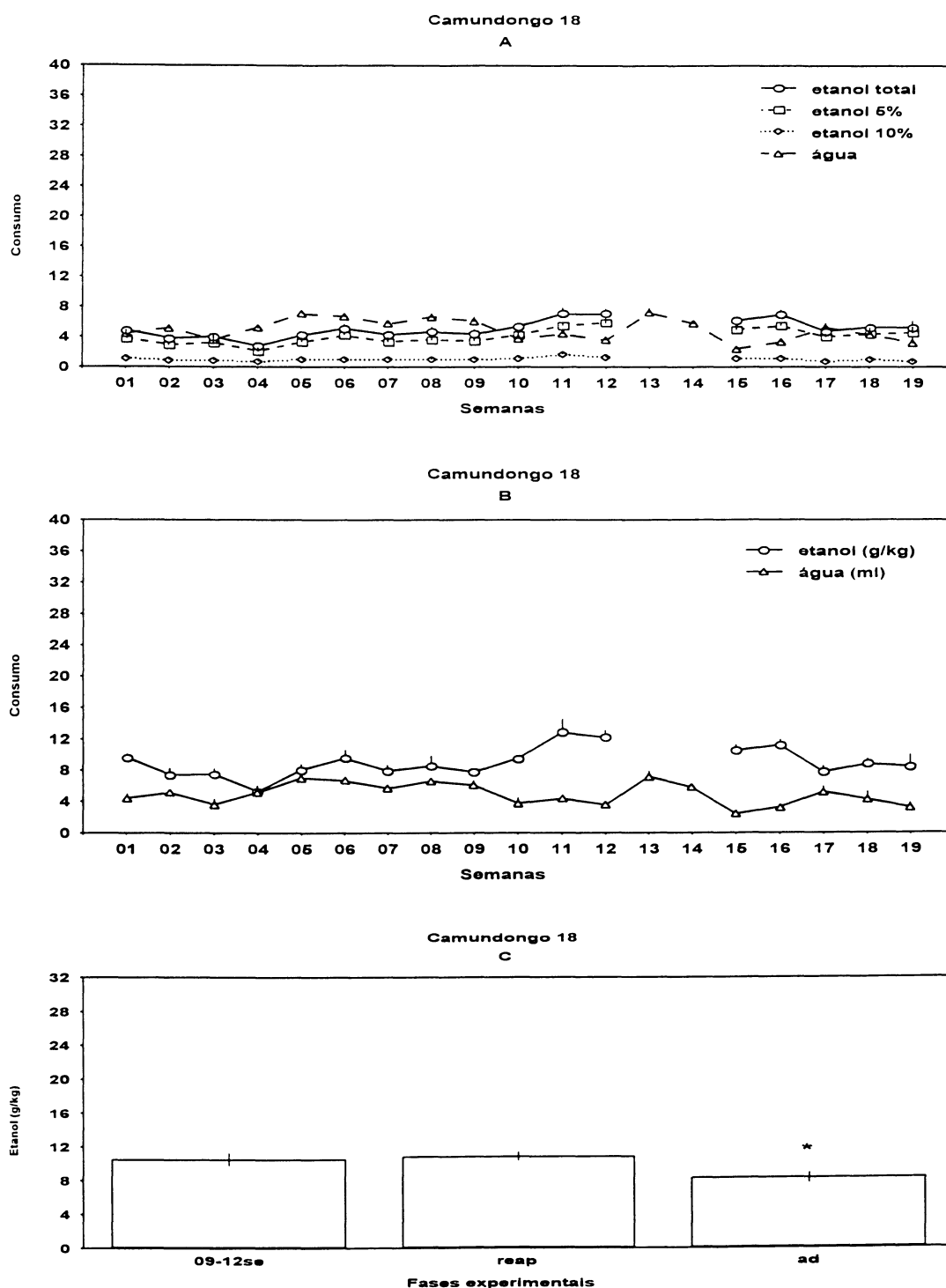


FIGURA 17 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 18: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

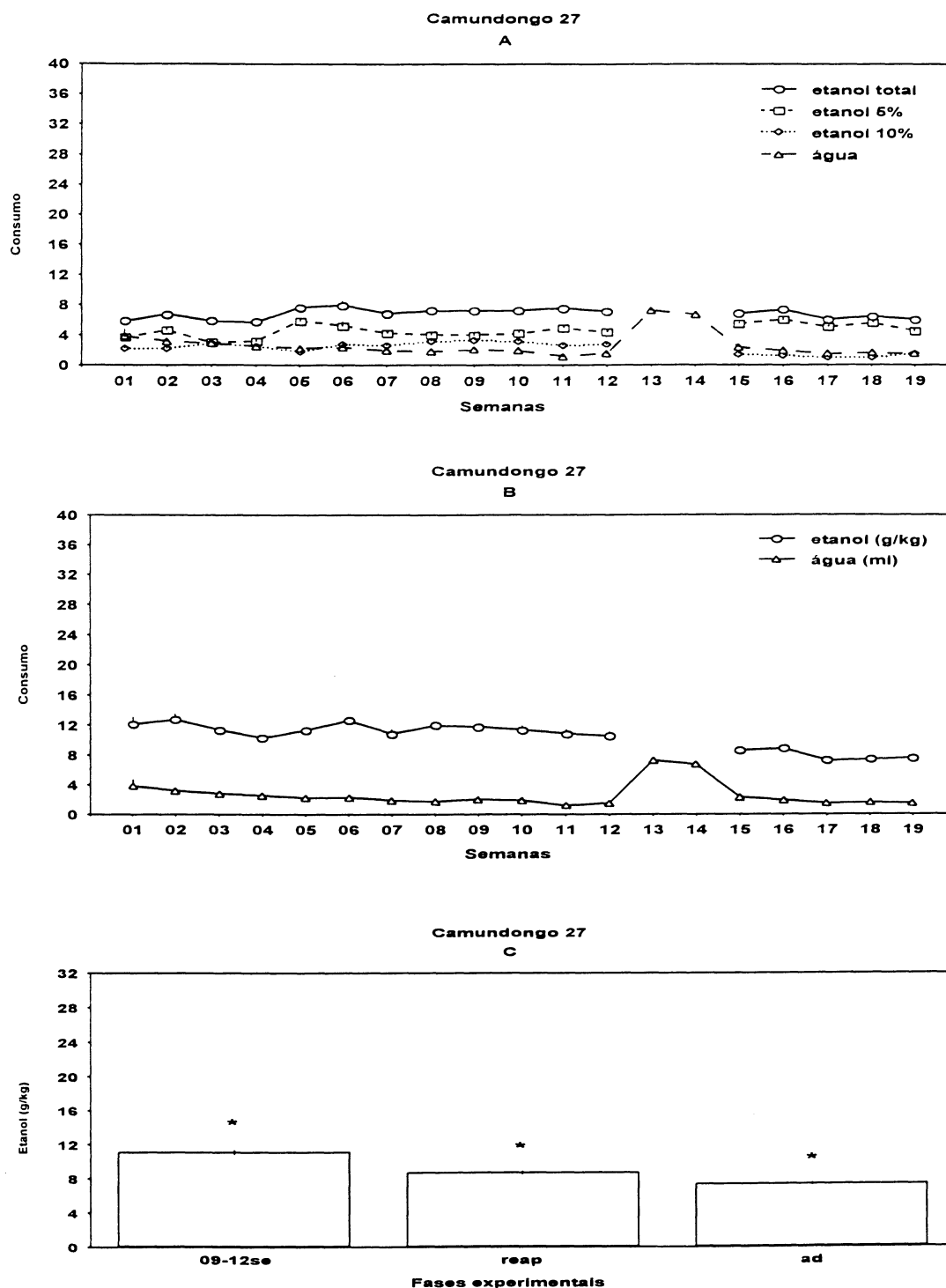


FIGURA 18 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 27: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo P: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

Grupo de consumidores com perfil de não dependente 'leve'

As Figuras 19 a 25 representam os padrões de consumo para os camundongos classificados como não dependentes com consumo 'leve'. Na parte superior de cada figura (A) estão os gráficos dos volumes das soluções consumidas (água, etanol 5% e etanol 10%) e o volume total de etanol (soma dos volumes das soluções etílicas). Na região intermediária (B), pode-se observar o gráfico do consumo de etanol (g/kg) e de água (mL). Na parte inferior (C), observa-se o gráfico das médias do consumo de etanol (g/kg) para cada fase experimental (últimas quatro semanas da livre escolha, duas semanas de reapresentação e três semanas de adulteração).

Sete animais apresentaram esse perfil (03, 04, 11, 19, 20, 23 e 24). Nos animais desse grupo, o consumo de etanol (g/kg) se mostrou relativamente baixo (entre 3,21g e 5,61g) no decorrer do tratamento com redução significativa durante a fase de reapresentação ou de adulteração (figuras 19 a 25 porção C). Todos os animais desse grupo apresentaram preferência pela água sendo a porcentagem do consumo de água em relação ao volume total de líquido consumido significativamente maior do que a das soluções etílicas, cujos valores de "t" para as comparações entre porcentagem de água e etanol consumido para cada animal foram: $t_3 = -47,45$, $t_4 = -18,26$, $t_{11} = -17,29$, $t_{19} = -23,68$, $t_{20} = -6,19$, $t_{23} = -40,58$, $t_{24} = -23,96$, $p < 0,0001$, teste t independente. Nenhum camundongo aumentou significativamente o consumo de água durante as semanas de abstinência em relação às outras semanas do experimento (comparações para cada animal: $F_{03}(3,72) = 2,59$, $p > 0,05$; $F_{04}(3,72) = 15,12$, $p < 0,001$; $F_{11}(3,72) = 2,84$, $p < 0,05$; $F_{19}(3,72) = 2,79$, $p < 0,05$; $F_{20}(3,72) = 6,47$, $p < 0,001$; $F_{23}(3,72) = 47,41$, $p < 0,0001$; $F_{24}(3,72) = 7,44$, $p < 0,001$).

Em todos os animais desse grupo foi observada uma interação significativa entre tempo de tratamento e consumo das soluções ofertadas (etílicas e água), ($F_{03}(48,303) = 4,79$; $F_{04}(48,303) = 8,50$; $F_{11}(48,303) = 2,95$; $F_{19}(48,303) = 5,11$; $F_{20}(48,303) = 5,79$; $F_{23}(48,303) = 3,40$; $F_{24}(48,303) = 3,42$, $p < 0,0001$; ANOVA de duas vias).

As médias do consumo de etanol total do **camundongo 03** referentes à primeira e quinta semanas e as médias do consumo de etanol 5% nas primeiras três semanas de tratamento foram significativamente maiores do que algumas semanas

do tratamento (6^a, 7^a, 9^a, 10^a, 11^a, 12^a e 15^a) ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 4,67$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 5,22$, $p<0,0001$). As médias do consumo de etanol 10% na primeira e terceira semanas foram significativamente maiores do que algumas semanas (7^a, 9^a, 10^a, 11^a, 12^a, 17^a, 18^a e 19^a) sendo que a média da terceira semana também foi significativamente maior do que as semanas da fase de reapresentação ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 4,40$, $p<0,0001$). A média do consumo de etanol (g/kg) durante a fase de reapresentação foi significativamente maior do que a das outras fases ($F_{03}(2,59)= 17,83$, $p<0,0001$) (figura 19).

As médias do consumo de etanol total e etanol 5% do **camundongo 04** na oitava semana foram significativamente maiores do que as das demais semanas do tratamento ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 8,26$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 7,83$, $p<0,0001$). A média do consumo de etanol 10% na oitava semana se mostrou maior do que a maioria das semanas do tratamento (3^a, 4^a, 5^a, 6^a, 7^a, 8^a, 9^a, 10^a, 11^a, 12^a, 15^a, 17^a, 18^a e 19^a) ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 5,14$, $p<0,0001$). A média do consumo de água na fase de livre escolha (últimas quatro semanas de livre escolha) foi significativamente menor do que a das outras fases. O padrão do consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 03 ($F_{04}(2,59)= 23,19$, $p<0,0001$) (figura 20).

O consumo das diferentes soluções do **camundongo 11** não apresentou muitas alterações significativas entre as médias semanais do consumo diário. A média da décima primeira semana do consumo de etanol total foi significativamente maior do que as da fase de adulteração, já as médias da sexta e décima primeira semanas do consumo de etanol 5% foram significativamente maiores do que algumas semanas ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 3,57$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 4,18$, $p<0,0001$). A média do consumo de etanol 10% da quarta semana foi significativamente maior do que todas as demais exceto em relação à quinta semana ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 5,12$, $p<0,0001$). O consumo de água não apresentou alterações significativas no decorrer do experimento. A média do consumo de etanol (g/kg) da primeira fase do experimento (últimas quatro semanas de livre escolha) foi significativamente maior do que as das demais fases ($F_{11}(2,59)= 26,94$, $p<0,0001$) (figura 21).

A média do consumo de etanol total e etanol 5% da décima segunda semana do tratamento do **camundongo 19** foi significativamente maior do que as demais semanas, já para o consumo de etanol 10% não foram encontradas grandes alterações significativas entre as médias semanais do consumo diário que foram

sempre baixas ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 4,91$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 5,25$, $p<0,0001$; $F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 2,60$, $p<0,01$). O consumo de água não mostrou alterações significativas no transcorrer do tratamento. O padrão do consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 11 ($F_{19}(2,59)= 6,34$, $p<0,05$) (figura 22).

O consumo de etanol total do **camundongo 20** não apresentou alterações significativas entre as médias semanais do consumo diário. As médias do consumo de etanol 5% na primeira e última semana do experimento apresentaram-se significativamente maiores do que na maioria das demais semanas (2^a, 3^a, 4^a, 7^a, 8^a, 9^a, 11^a, 12^a, 15^a e 17^a) ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 3,93$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 4,71$, $p<0,0001$). A média do consumo de etanol 10% foi significativamente maior do que algumas semanas (2^a, 3^a, 4^a, 7^a, 16^a e 17^a) ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 3,56$, $p<0,0001$). A média do consumo de etanol (g/kg) na fase de reapresentação foi significativamente maior do que a da fase de adulteração ($F_{20}(2,59)= 3,74$, $p<0,05$) (figura 23).

As médias da primeira e décima sexta semanas tanto do consumo de etanol total como de etanol 5% do **camundongo 23** foram significativamente maiores do que todas as demais ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 6,06$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 7,34$, $p<0,0001$). A média do consumo de etanol 10% da primeira semana foi significativamente maior do que as outras ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 6,39$, $p<0,0001$). O consumo de água durante as fases de reapresentação e adulteração foi significativamente maior do que das demais fases. O padrão de consumo de etanol (g/kg) foi similar ao do camundongo 03 ($F_{23}(2,59)= 9,18$, $p<0,001$) (figura 24).

O consumo de etanol total do **camundongo 24** não apresentou alterações significativas entre suas médias semanais de consumo diário, já as médias da primeira e décima quarta semanas do consumo de etanol 5% foram significativamente maiores do que da maioria das semanas do tratamento (3^a, 4^a, 6^a, 7^a, 8^a, 9^a, 10^a, 11^a, 12^a e 15^a) ($F_{\text{etanol total}}(16,101)= 2,67$; $F_{\text{etanol 5\%}}(16,101)= 4,21$, $p<0,0001$). A média do consumo de etanol 10% da última semana do experimento foi significativamente maior do que as demais ($F_{\text{etanol 10\%}}(16,101)= 2,47$, $p<0,01$). O consumo de água na fase de livre escolha (últimas quatro semanas de livre escolha) foi significativamente menor em relação às fases posteriores. Não foram encontradas diferenças significativas entre as médias do consumo de etanol (g/kg) nas diferentes fases do experimento ($F_{24}(2,59)= 1,97$, $p>0,05$) (figura 25).

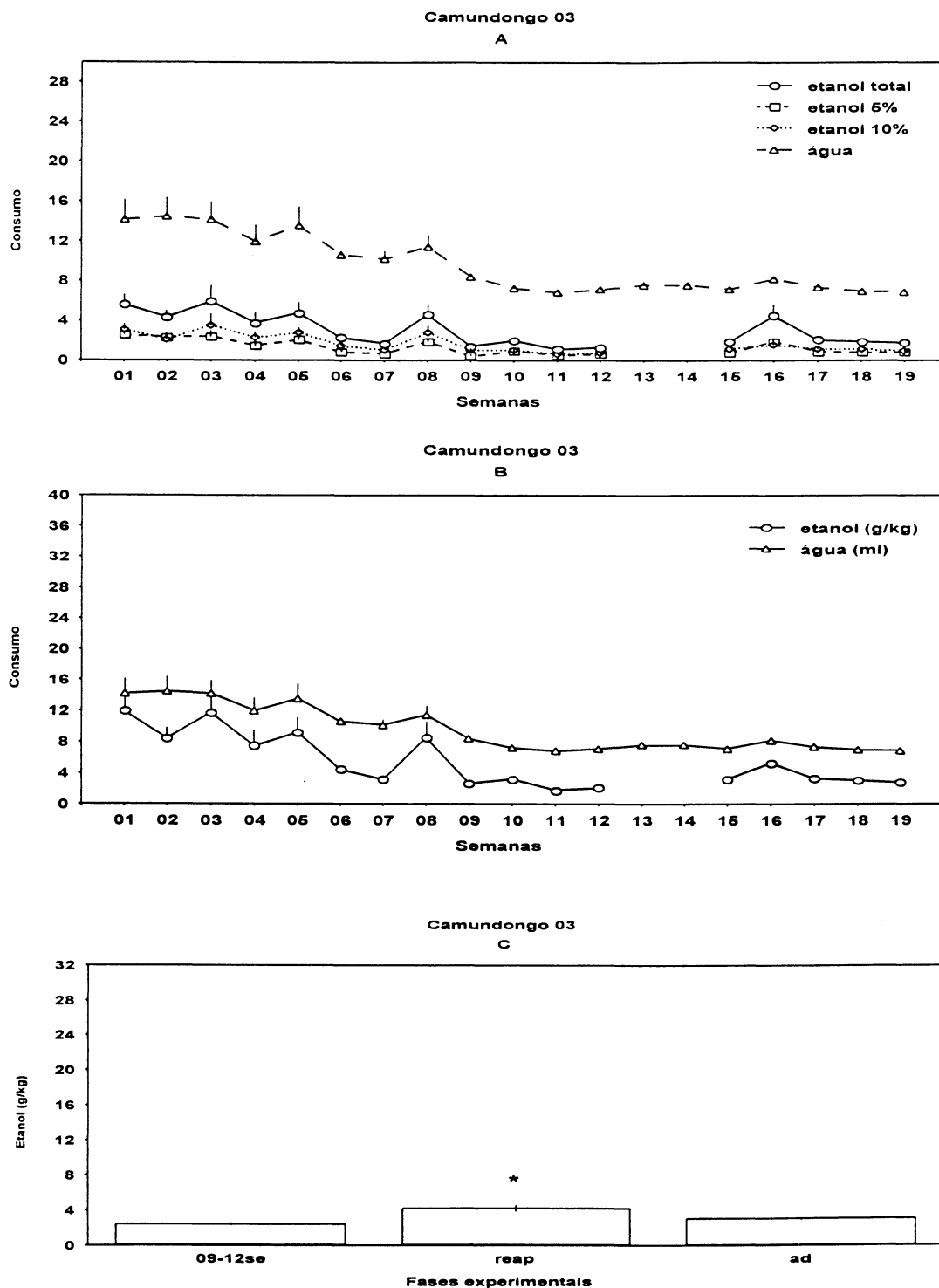


FIGURA 19 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 03: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo L: A: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); B: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; C: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

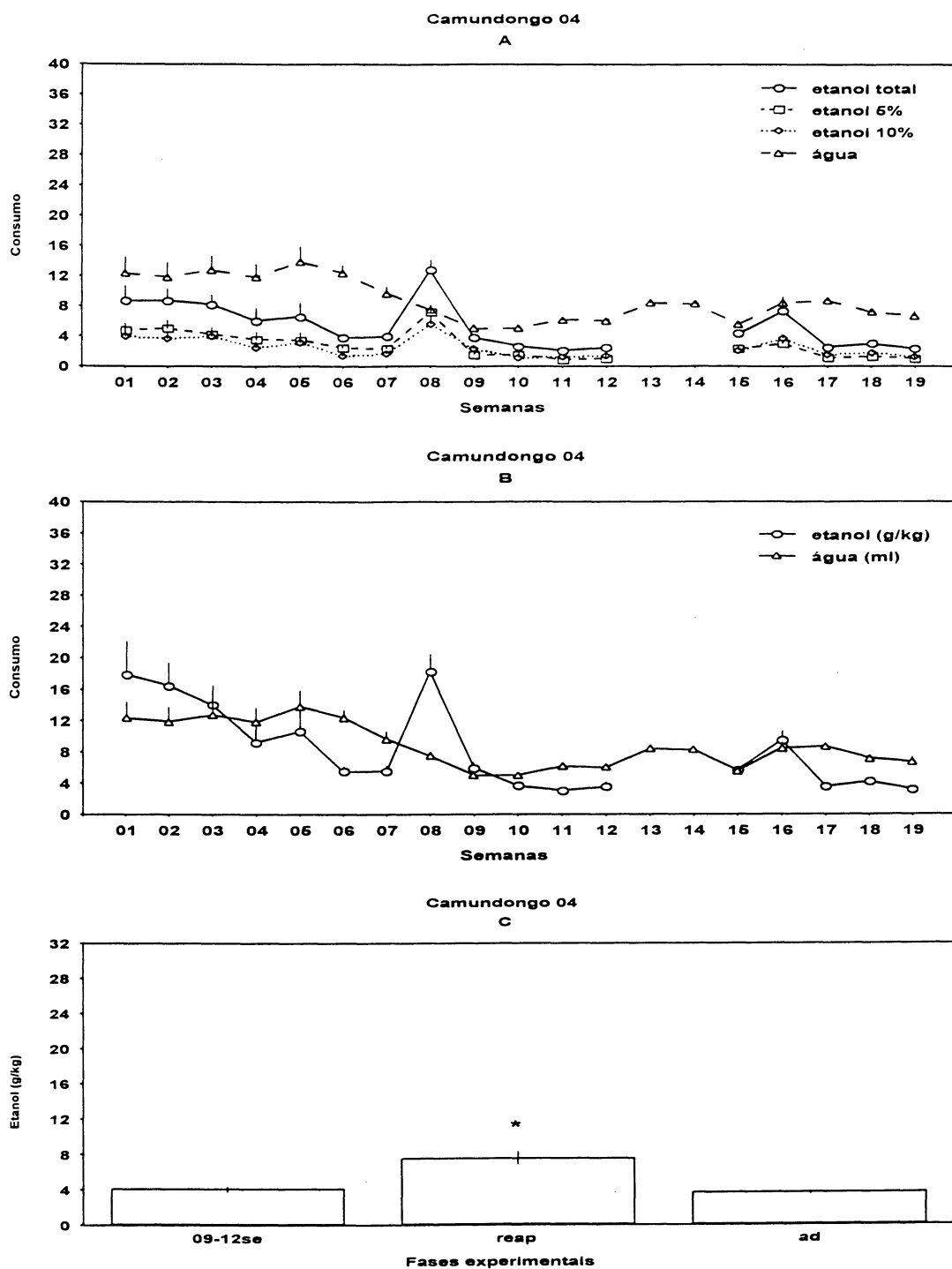


FIGURA 20 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 04: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo L: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

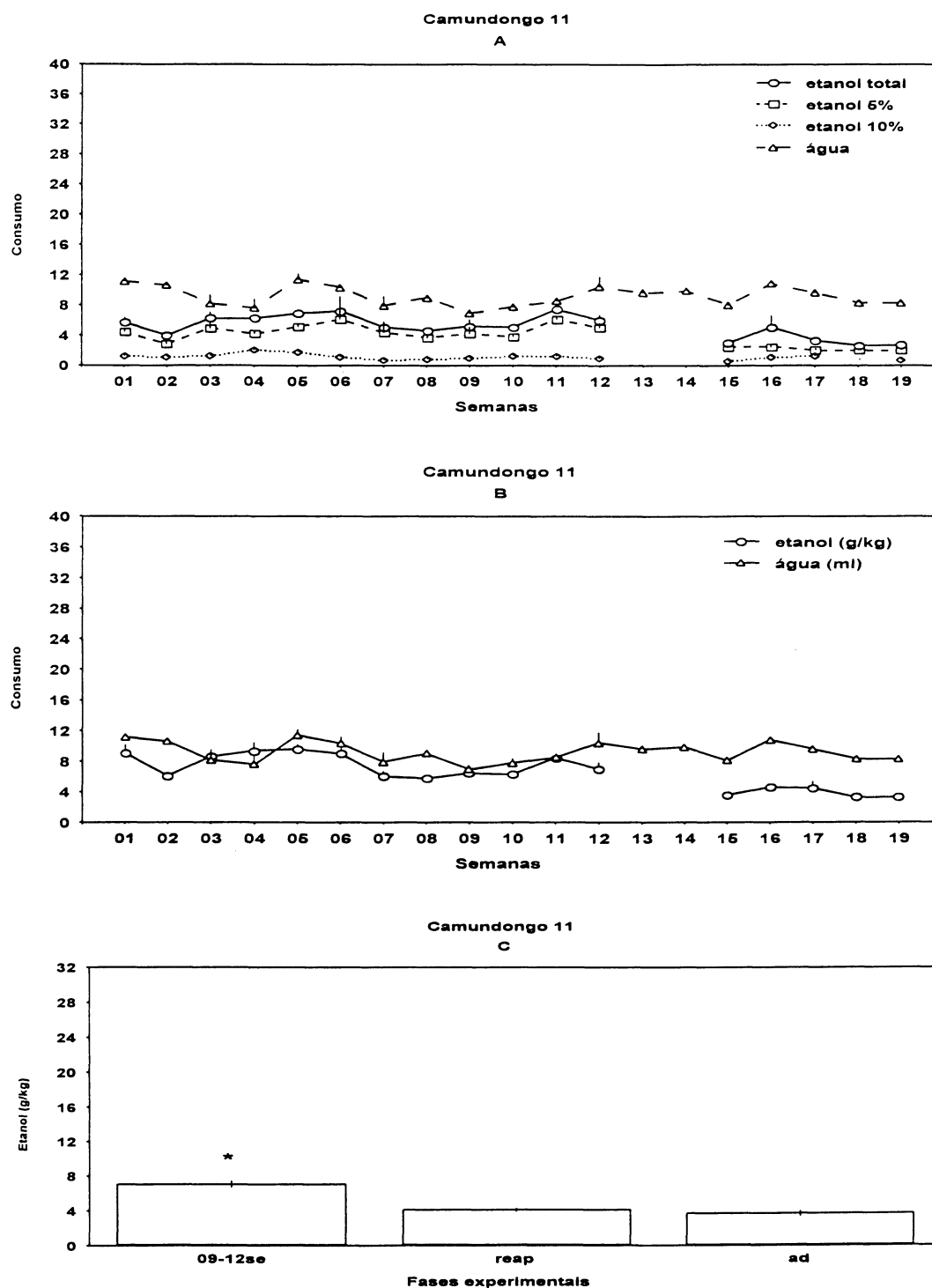
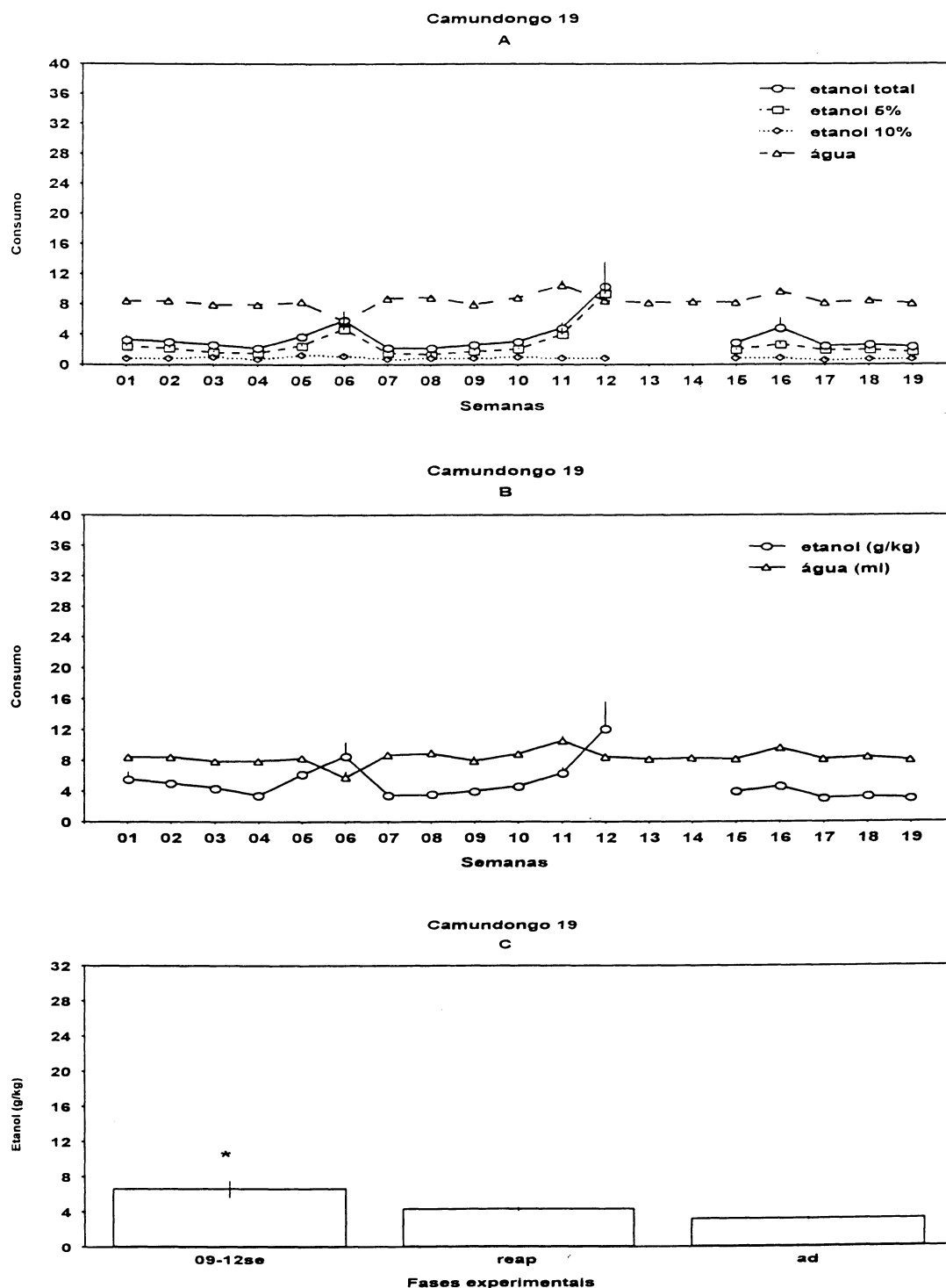


FIGURA 21 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 11: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo L: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)



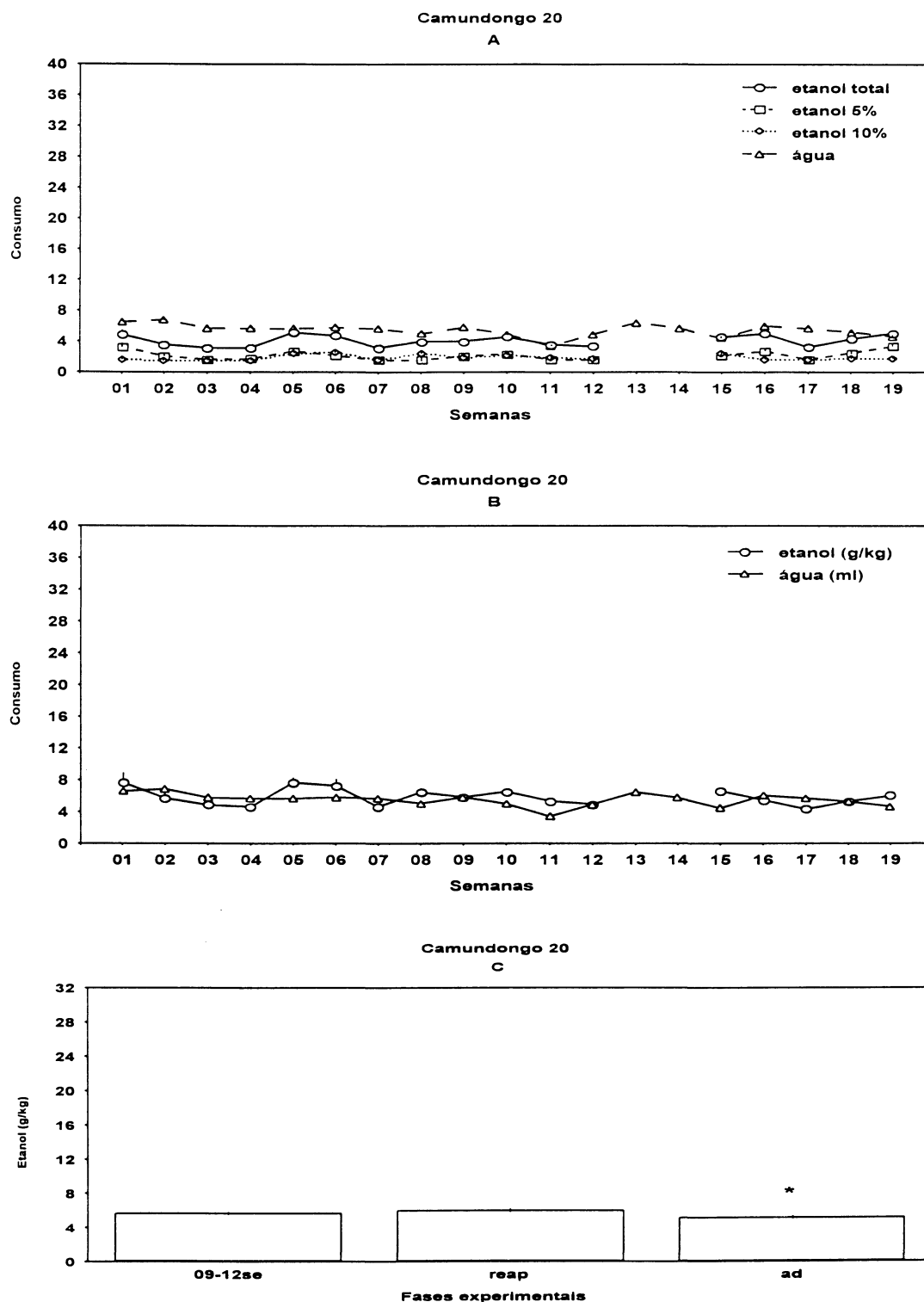


FIGURA 23 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 20: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo L: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

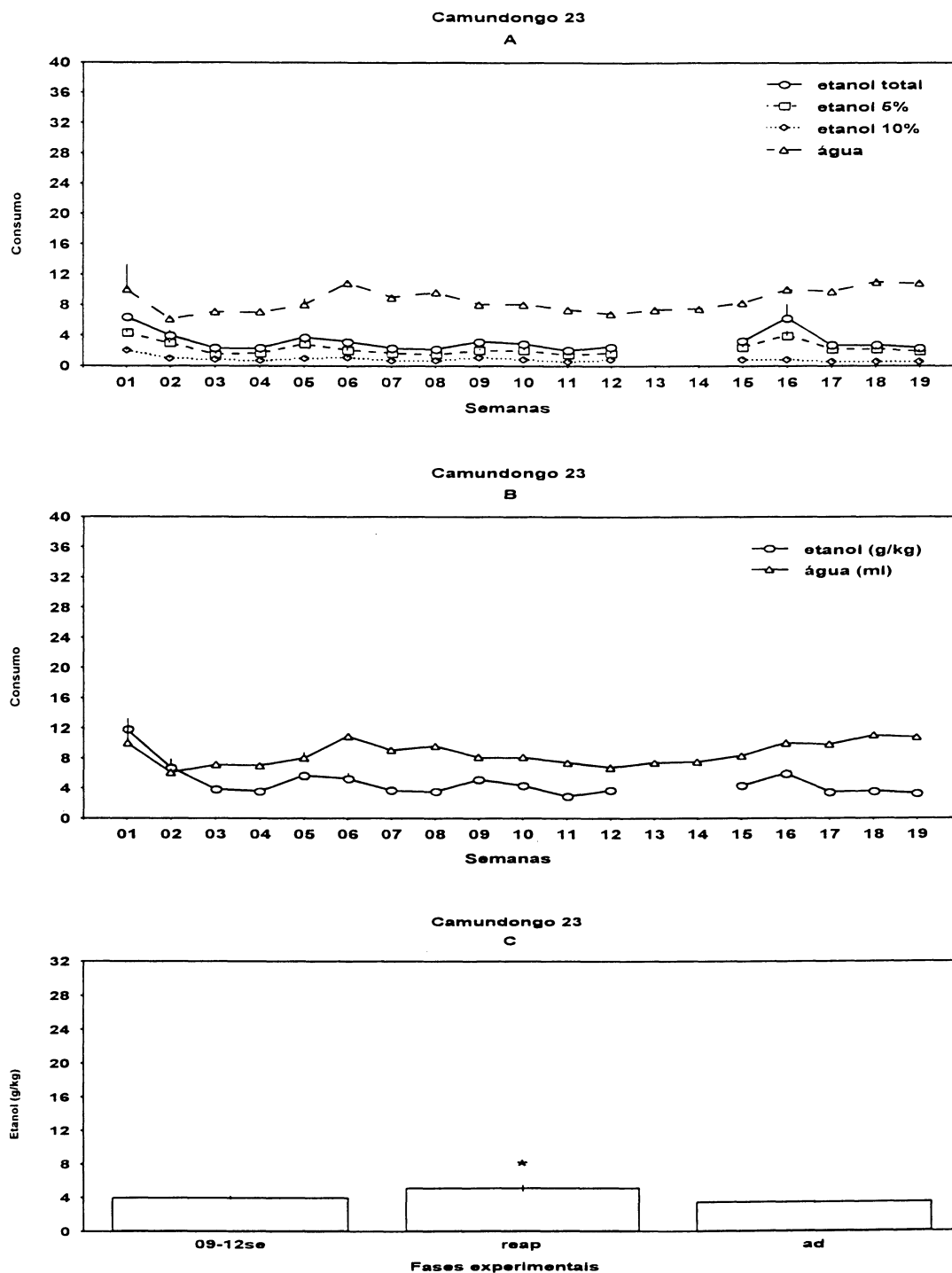


FIGURA 24 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 23: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo L: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

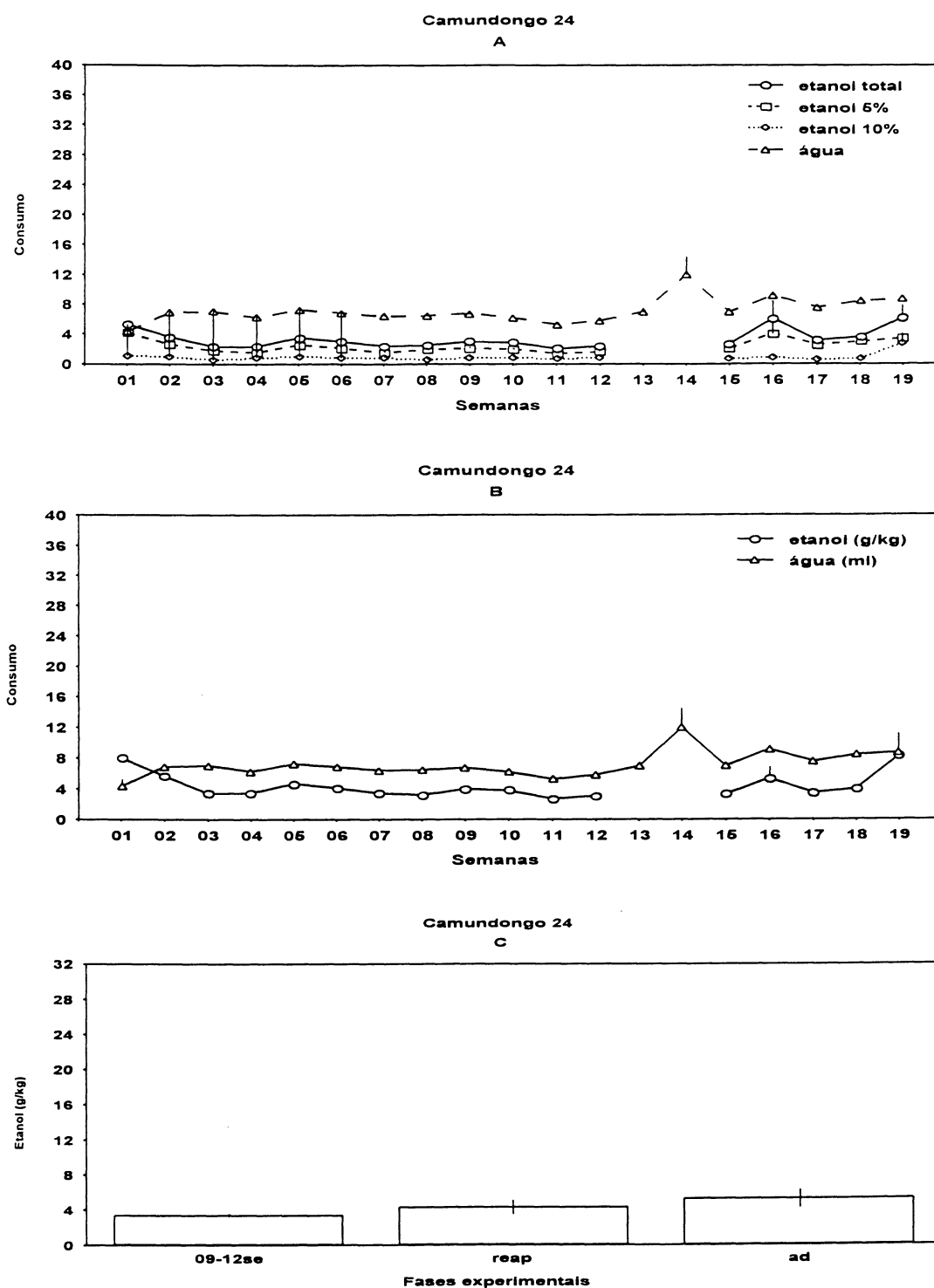


FIGURA 25 – CONSUMO DO CAMUNDONGO 24: Consumo de etanol ao longo do tratamento para os animais do grupo L: **A**: média \pm ep semanal do consumo (mL) diário ao longo do tratamento (1-12: fase de livre escolha, 13-14: fase de abstinência, 15-16: fase de reapresentação, 17-19: fase de adulteração); **B**: média \pm ep semanal do consumo diário de etanol (g/kg) e de água (mL) ao longo do tratamento; **C**: média \pm ep do consumo de etanol (g/kg) nas últimas quatro semanas de livre escolha (09-12se), nas semanas de reapresentação (reap) e nas semanas de adulteração (ad). *diferença entre as fases ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls)

Grupo controle

Em geral, o consumo de água pelos animais do grupo controle foi estável e análises através de ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls revelaram algumas oscilações significativas no decorrer das semanas.

As médias do consumo de água das últimas três semanas de tratamento para o **camundongo 31** foram significativamente menores do que quase todas as semanas anteriores ($F_{31}(18,113)= 5,76, p<0,0001$) (figura 26).

O **camundongo 32** apresentou médias do consumo significativamente maiores na primeira e décima terceira semanas de tratamento quando comparadas com as demais semanas ($F_{32}(18,113)= 4,43, p<0,0001$) (figura 26).

As médias do consumo do **camundongo 33** na quinta e sexta semanas foram significativamente maiores do que a maioria das demais semanas do experimento ($F_{33}(18,113)= 5,49, p<0,0001$) (figura 26).

A média do consumo da primeira semana do **camundongo 34** foi significativamente menor do que as das semanas seguintes, já na nona semana a média do consumo se apresentou significativamente maior do que as demais semanas do experimento ($F_{34}(18,113)=11,23, p<0,0001$) (figura 26).

O **camundongo 35** apresentou grande variabilidade em seu consumo durante todo o experimento, demonstrado através de diferenças significativas entre todas as médias semanais do consumo diário. Além disso, seu consumo foi diminuindo a partir da décima segunda semana de tratamento ($F_{35}(18,113)=86,50, p<0,0001$) (figura 26).

A média do consumo da nona semana do **camundongo 36** foi significativamente maior do que as das semanas anteriores e também da décima semana de tratamento. A partir da décima terceira semana do experimento seu consumo sofreu um aumento significativo em relação às semanas anteriores o que persistiu até o final do experimento ($F_{36}(18,113)= 29,49, p<0,0001$) (figura 26).

O consumo do **camundongo 37** durante as primeiras semanas do experimento (1^a, 2^a, 3^a, 6^a, 8^a e 9^a) apresentou médias significativamente maiores do que as demais semanas, e a partir da décima semana foi observada uma queda em seu consumo ($F_{37}(18,113)= 19,69, p<0,0001$) (figura 27).

A média do consumo da sexta semana do **camundongo 38** foi significativamente maior do que as das demais semanas, e as médias das semanas

finais (10^a, 11^a, 12^a, 15^a, 16^a, 17^a e 18^a) foram significativamente menores do que as das nove primeiras semanas do experimento, exceto em relação a terceira semana ($F_{38}(18,113)= 12,42$, $p<0,0001$) (figura 27).

A média do consumo da sexta semana do **camundongo 39** foi significativamente maior do que as últimas onze semanas de tratamento, e a média da décima quarta semana foi significativamente menor do que todas as das outras semanas ($F_{39}(18,113)= 9,00$, $p<0,0001$) (figura 27).

O consumo do **camundongo 40** na quinta semana apresentou uma média significativamente maior em relação às semanas anteriores e também semanas subsequentes do experimento (até a décima primeira semana). As médias do consumo a partir da décima quarta semana foram maiores significativamente em relação a maioria das semanas anteriores do experimento ($F_{40}(18,113)= 18,16$, $p<0,0001$) (figura 27).

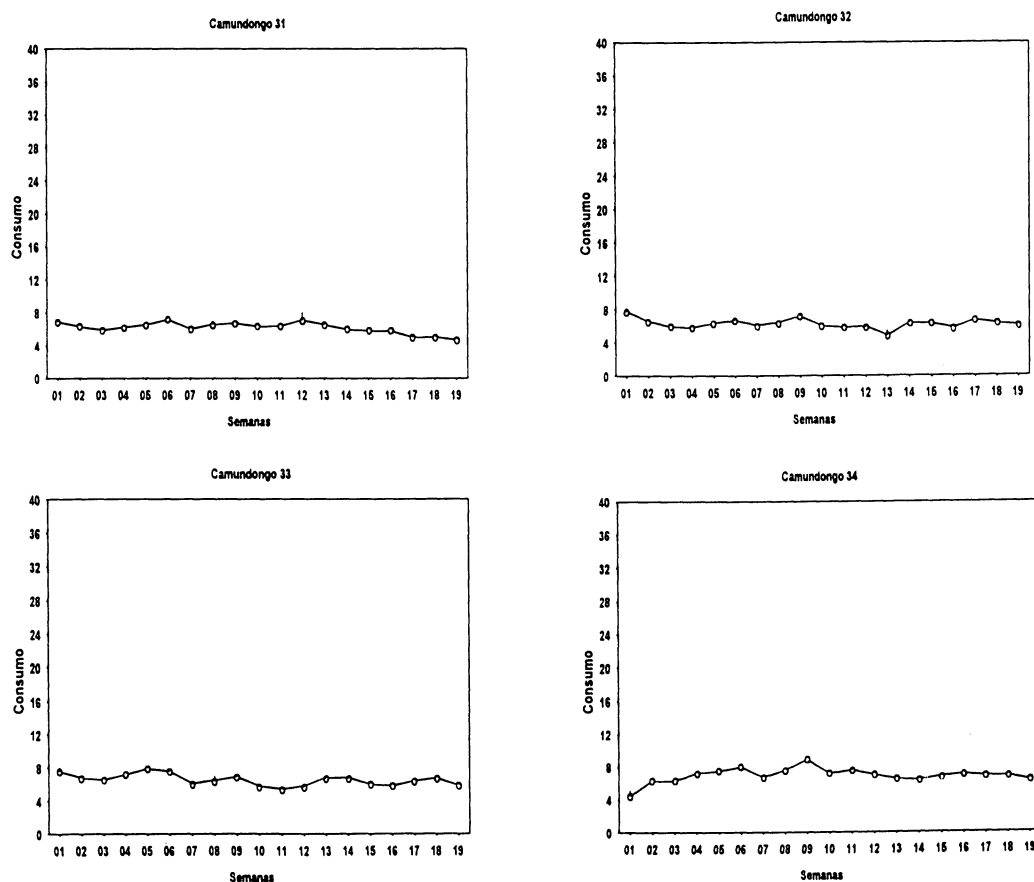


FIGURA 26 – CONSUMO DOS CAMUNDONGOS 31, 32, 33 e 34: média \pm ep semanal do consumo diário de água (mL) ao longo do tratamento para os animais do grupo controle.

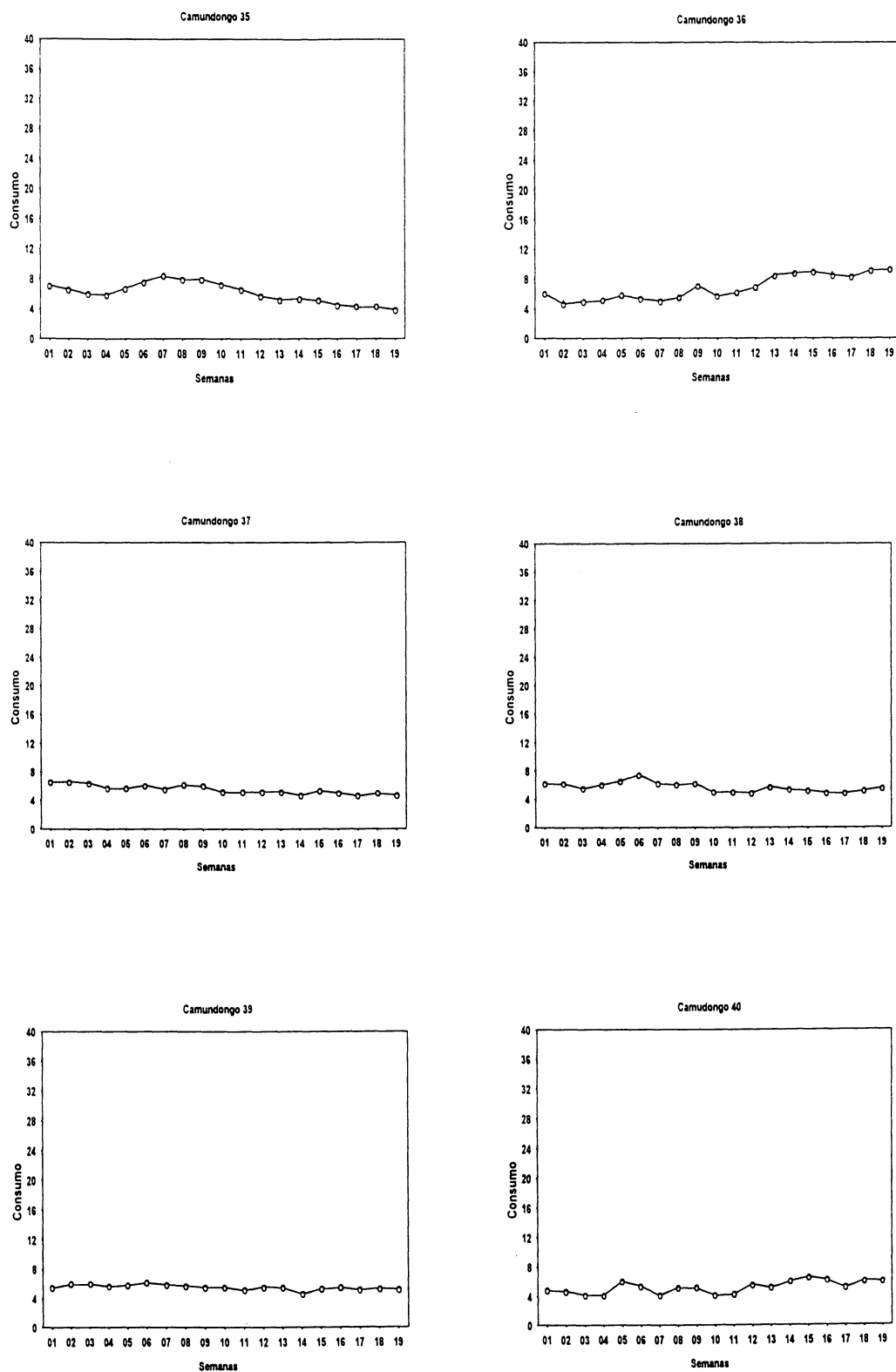


FIGURA 27 – CONSUMO DOS CAMUNDONGOS 35, 36, 37, 38, 39 e 40: média \pm ep semanal do consumo diário de água (mL) ao longo do tratamento para os animais do grupo controle.

4.2.3 Padrão de Consumo no Grupo

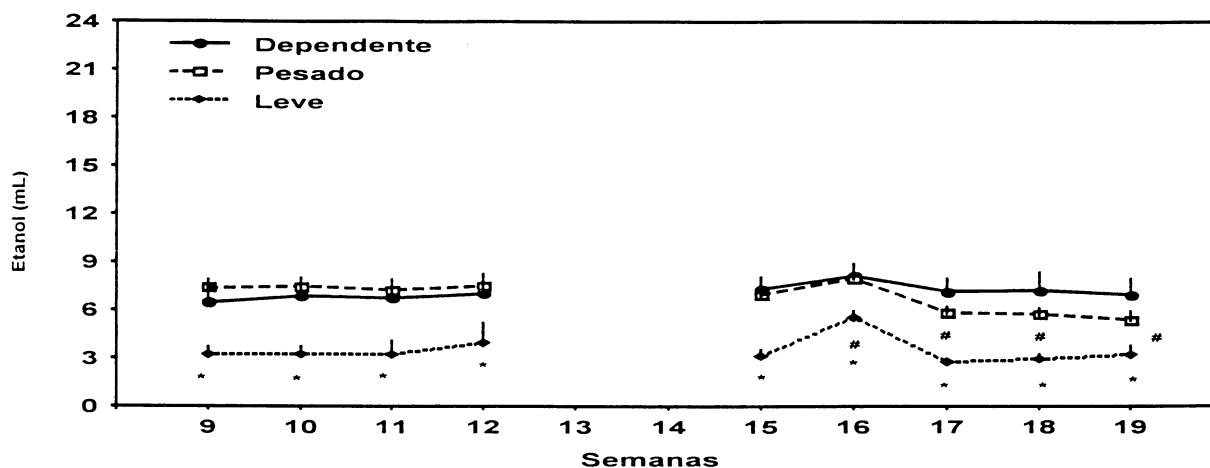
Considerando as onze semanas finais de tratamento, o grupo L apresentou um consumo de etanol (ml) significativamente menor do que os grupos D e P sendo sua média de consumo de $3 \pm 0,3$ mL comparado com $7 \pm 0,8$ mL e $7 \pm 0,5$ mL dos grupos D e P respectivamente ($F(2,21)= 10,10$ $p<0,01$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

Comparações entre as médias semanais de consumo diário de etanol total a partir da nona semana de tratamento revelaram que durante todo o tratamento o grupo L consumiu significativamente menos do que os grupos D e P ($F_{9^a}(2,21)= 9,13$, $p<0,001$; $F_{10^a}(2,21)= 13,54$, $p<0,001$; $F_{11^a}(2,21)= 8,01$, $p<0,01$; $F_{12^a}(2,21)= 4,54$, $p<0,05$; $F_{15^a}(2,21)= 14,52$, $p<0,0001$; $F_{16^a}(2,21)= 4,01$, $p<0,05$; $F_{17^a}(2,21)= 19,99$, $p<0,0001$; $F_{18^a}(2,21)= 11,71$, $p<0,001$; $F_{19^a}(2,21)= 6,81$, $p<0,01$, ANOVA seguido de Newman-Keuls), (gráfico 2).

O grupo D não apresentou alterações significativas entre suas médias semanais de consumo de etanol total ao longo do tratamento. O grupo P apresentou uma redução significativa no consumo durante as semanas de adulteração ($F_P(8,80)= 7,46$, $p<0,0001$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). E, o consumo do grupo L na décima sexta semana foi significativamente maior do que o das demais semanas ($F_L(8,48)= 2,41$, $p<0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls).

Em relação ao consumo de etanol em g/kg, foi observado um perfil de consumo similar ao encontrado para etanol em volume entre os três grupos onde a média geral de consumo ao longo das onze semanas finais de tratamento foi de $11,7 \pm 1,14$ g/kg, $11,0 \pm 0,93$ g/kg e $4,5 \pm 0,3$ g/kg, para o grupo D, P e L, respectivamente ($F(2,21)= 12,27$, $p<0,001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). Houve também uma interação entre consumo de etanol (g/kg) e grupo ($F(32,336)= 2,54$, $p<0,0001$, ANOVA de duas vias).

GRÁFICO 2 – CONSUMO DE ETANOL TOTAL POR GRUPO

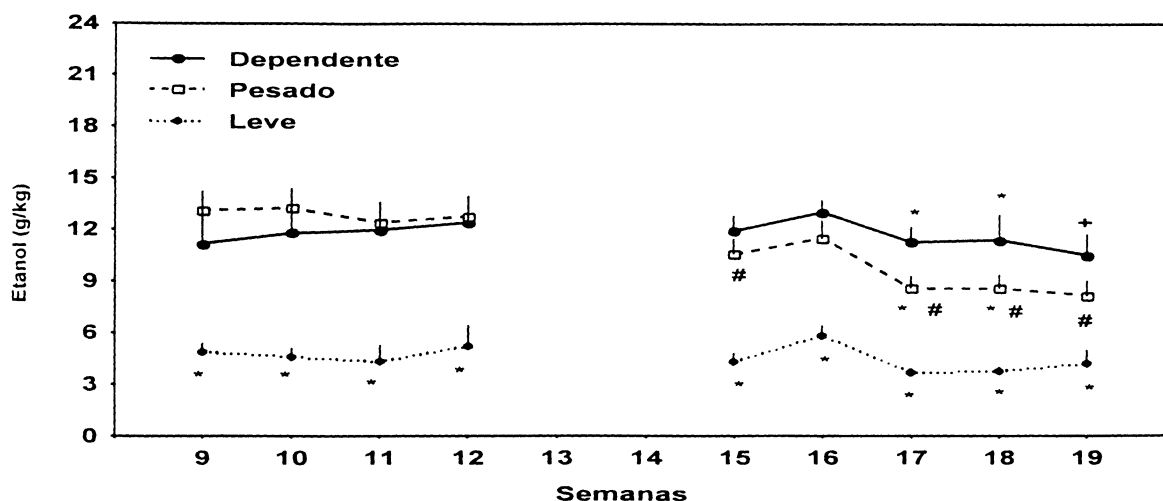


NOTA: média \pm ep semanal do consumo diário para cada semana de tratamento (9-12: fase de livre escolha; 13-14: fase de abstinência; 15-16: fase de reapresentação; 17-19: fase de adulteração). *diferença entre os grupos na mesma semana ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). # diferença no grupo ao longo do tratamento ($p < 0,05$, ANOVA de 1 via com repetição, Newman-Keuls).

Entre a nona e décima sexta semana de tratamento o grupo L consumiu significativamente menos etanol (g/kg) do que os grupos D e P, e nas semanas da fase de adulteração o consumo do grupo D passou a ser significativamente maior do que os outros dois grupos. Na última semana de adulteração, o consumo do grupo D ainda era o maior, porém só atingiu significância em relação ao grupo L ($F_{9^a}(2,21) = 9,94$, $p < 0,001$; $F_{10^a}(2,21) = 15,01$, $p < 0,0001$; $F_{11^a}(2,21) = 12,09$, $p < 0,001$; $F_{12^a}(2,21) = 11,05$, $p < 0,001$; $F_{15^a}(2,21) = 19,75$, $p < 0,0001$; $F_{16^a}(2,21) = 13,20$, $p < 0,001$; $F_{17^a}(2,21) = 26,24$, $p < 0,0001$; $F_{18^a}(2,21) = 14,52$, $p < 0,0001$; $F_{19^a}(2,21) = 8,79$, $p < 0,01$, ANOVA seguido de Newman-Keuls), (gráfico 3).

Também não foram encontradas diferenças significativas entre as médias semanais de consumo de etanol (g/kg) para o grupo D. O grupo P apresentou uma redução significativa no consumo nas semanas de adulteração, e na décima quinta semana o consumo foi significativamente menor do que nas demais semanas, exceto em relação à fase de adulteração ($F_P(8,80) = 17,98$, $p < 0,0001$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). O grupo L não apresentou diferenças significativas entre suas médias semanais de consumo.

GRÁFICO 3 - CONSUMO DE ETANOL G/KG POR GRUPO



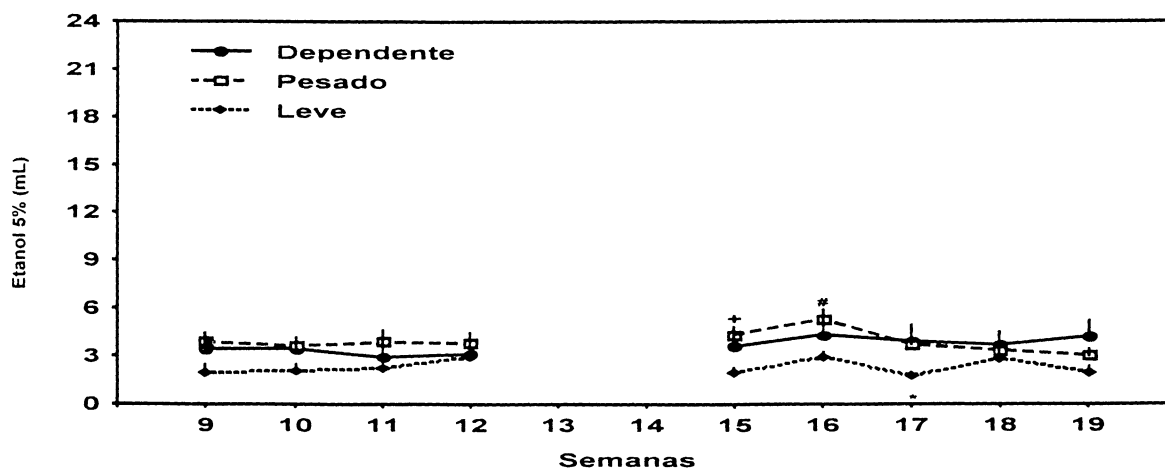
NOTA: média \pm ep semanal do consumo diário para cada semana de tratamento (9-12: fase de livre escolha; 13-14: fase de abstinência; 15-16: fase de reapresentação; 17-19: fase de adulteração). *diferença entre os grupos na mesma semana ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). # diferença no grupo ao longo do tratamento ($p < 0,05$, ANOVA de 1 via com repetição, Newman-Keuls). + diferença entre o grupo D e L na mesma semana do tratamento ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

Quanto ao consumo de etanol a 5%, o grupo L apresentou um consumo inferior ao dos demais grupos sendo a média geral desse consumo ao longo das onze semanas finais foi igual a $2 \pm 0,3$ mL e igual a $4 \pm 0,8$ mL e $4 \pm 0,4$ mL, para os grupos D e P, respectivamente ($F(2,21) = 6,08$, $p < 0,01$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

Entre os grupos, as médias semanais de consumo de etanol 5% não apresentaram diferenças significantes, exceto na décima quinta semana na qual o consumo do grupo P foi significativamente maior do que o do grupo L, e na décima sétima semana, onde o consumo do grupo L foi significativamente menor do que o dos outros dois grupos ($F_{15^a}(2,21) = 4,53$, $p < 0,05$; $F_{17^a}(2,21) = 5,52$, $p < 0,01$, ANOVA seguido de Newman-Keuls), (gráfico 4).

Ambos os grupos D e L não apresentaram alterações nas médias semanais de consumo de etanol 5% ao longo do tratamento. O consumo do grupo P na décima sexta semana foi significativamente maior do que nas demais semanas ($F_P(8,80) = 2,97$, $p < 0,01$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls).

GRÁFICO 4 - CONSUMO DE ETANOL 5% POR GRUPO



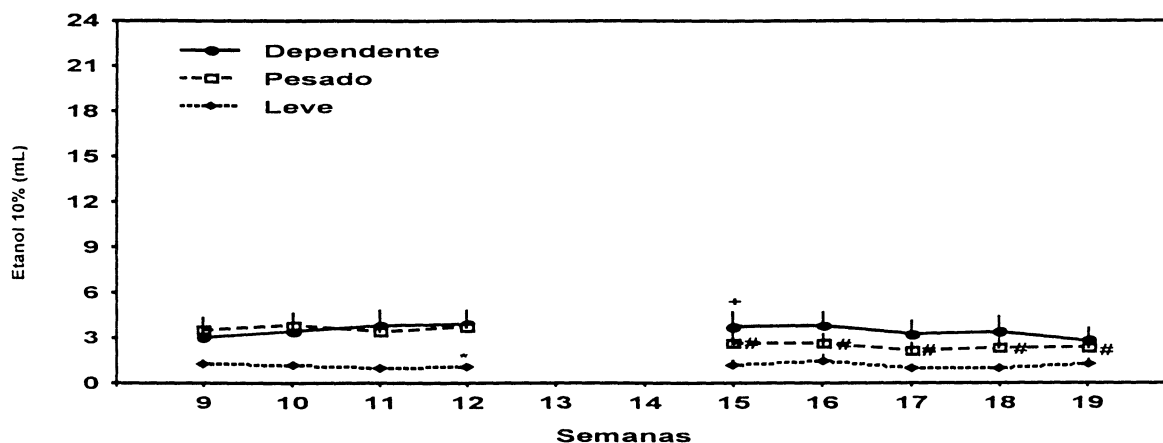
NOTA: média \pm ep semanal do consumo diário para cada semana de tratamento (9-12: fase de livre escolha; 13-14: fase de abstinência; 15-16: fase de reapresentação; 17-19: fase de adulteração). *diferença entre os grupos na mesma semana ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). # diferença no grupo ao longo do tratamento ($p < 0,05$, ANOVA de 1 via com repetição seguido de Newman-Keuls). + diferença entre o grupo P e L na mesma semana do tratamento ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

O valor da média geral de consumo de etanol 10% nas onze semanas finais de tratamento foi de $3 \pm 0,9$ mL, $3 \pm 0,6$ mL e $1 \pm 0,2$ mL para o grupo D, P e L, respectivamente. Foi observada interação entre grupo e tratamento ($F(32,336) = 3,01$, $p < 0,0001$, ANOVA de duas vias).

Na décima segunda semana a média do consumo de etanol 10% do grupo L foi significativamente menor do que a dos outros grupos, e entre a décima quinta e décima oitava semana o grupo D consumiu mais do que os demais grupos, sendo essa diferença significativa na primeira semana de reapresentação (15^a) em relação ao grupo L, ($F_{10^a}(2,21) = 3,50$, $p < 0,05$; $F_{12^a}(2,21) = 4,37$, $p < 0,05$; $F_{15^a}(2,21) = 3,41$, $p < 0,05$; $F_{16^a}(2,21) = 2,80$, $p = 0,08$; $F_{17^a}(2,21) = 3,44$, $p = 0,05$; $F_{18^a}(2,21) = 2,80$, $p = 0,08$, ANOVA seguido de Newman-Keuls), (gráfico 5).

Para o grupo D não foram encontradas diferenças significativas entre suas médias semanais de consumo de etanol 10%. No entanto, foi observada queda no consumo após a fase de abstinência no grupo P ($F_D(8,40) = 2,36$, $p < 0,05$; $F_P(8,80) = 10,09$, $p < 0,0001$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls).

GRÁFICO 5 - CONSUMO DE ETANOL 10% POR GRUPO



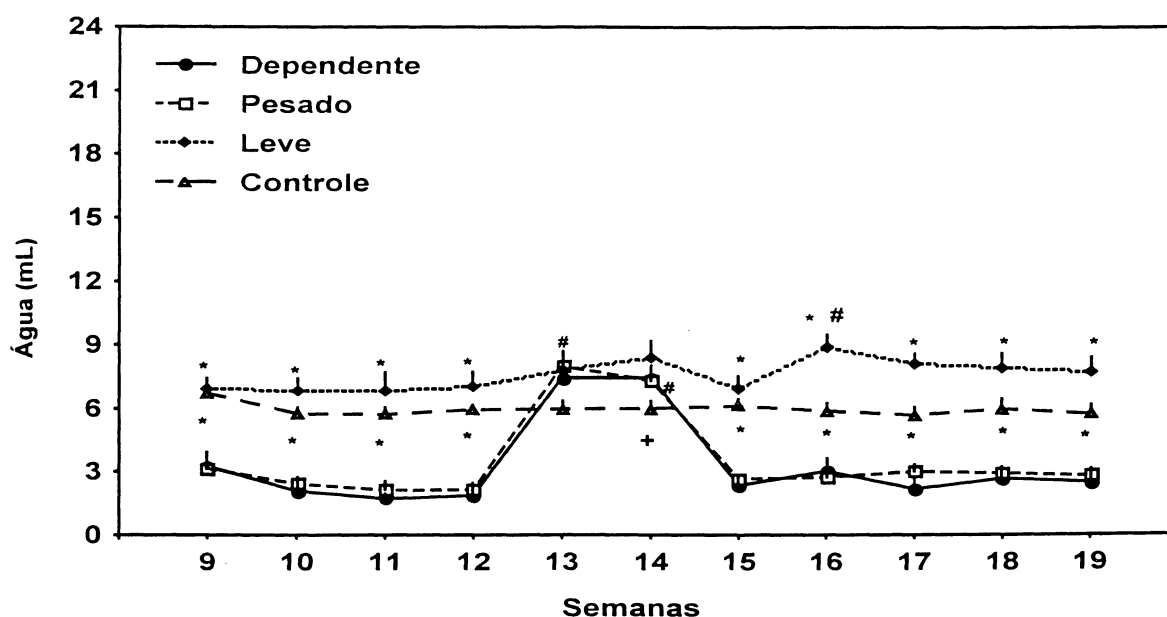
NOTA: média \pm ep semanal do consumo diário para cada semana de tratamento (9-12: fase de livre escolha; 13-14: fase de abstinência; 15-16: fase de reapresentação; 17-19: fase de adulteração). *diferença entre os grupos na mesma semana ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). # diferença no grupo ao longo do tratamento ($p < 0,05$, ANOVA de 1 via com repetição seguido de Newman-Keuls). + diferença entre o grupo D e L na mesma semana do tratamento ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

O grupo que demonstrou um maior consumo de água foi o L ($8 \pm 0,5$ mL), seguido do grupo controle ($6 \pm 0,3$ mL), o grupo D e P tiveram os valores mais baixos de consumo de água, ou seja, $2 \pm 0,4$ mL e $3 \pm 0,2$ mL, respectivamente ($F(3,30) = 22,85$, $p < 0,0001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

Durante as últimas quatro semanas de livre escolha (9^a-12^a), as médias semanais do consumo de água dos grupos L e controle foram significativamente maiores do que as dos grupos D e P ($F_{9^a}(3,30) = 20,12$; $F_{10^a}(3,30) = 38,25$; $F_{11^a}(3,30) = 23,61$; $F_{12^a}(3,30) = 47,16$, $p < 0,0001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls), (gráfico 6). Durante a abstinência, o grupo controle teve uma média de consumo menor do que a dos outros grupos (comparações *post hoc* entre as médias do consumo dos grupos na 13^a semana mostraram um valor de p entre 0,07-0,08), porém só atingiu significância em relação ao grupo L durante a segunda semana de abstinência (14^a), ($F_{13^a}(3,30) = 3,33$, $p < 0,05$; $F_{14^a}(3,30) = 2,98$, $p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). Na décima quinta semana todos os grupos retornaram ao mesmo padrão de consumo das semanas anteriores à abstinência (9^a-12^a). E a partir da décima sexta semana, o grupo L passou a consumir significativamente mais água do que todos os demais grupos, e o grupo controle continuou a consumir mais do que os grupos D e P ($F_{15^a}(3,30) = 44,73$; $F_{16^a}(3,30) = 46,41$; $F_{17^a}(3,30) = 34,98$; $F_{18^a}(3,30) = 26,77$; $F_{19^a}(3,30) = 23,06$, $p < 0,0001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

Comparações entre as médias semanais de consumo de água ao longo do tratamento revelaram que para os grupos D e P o consumo durante a abstinência foi significativamente maior do que nas demais semanas. O grupo L apresentou o consumo na décima sexta semana significativamente maior do que das semanas anteriores à abstinência (9^a-12^a) e da décima quinta semana ($F_D(10,50)= 27,39$; $F_P(10,100)= 31,14$, $p<0,0001$; $F_L(10,60)= 2,82$, $p<0,01$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). Não foram encontradas alterações significativas entre as médias semanais de consumo para o grupo controle ao longo do tratamento.

GRÁFICO 6 - CONSUMO DE ÁGUA POR GRUPO

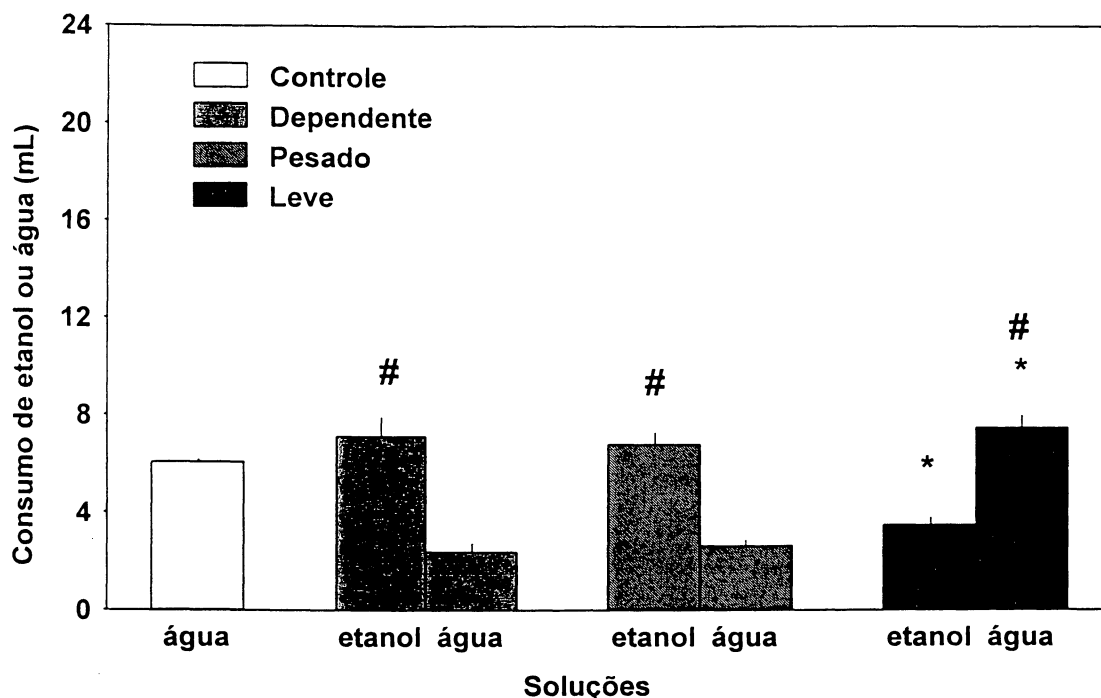


NOTA: média \pm ep semanal do consumo diário para cada semana de tratamento (9-12: fase de livre escolha; 13-14: fase de abstinência; 15-16: fase de reapresentação; 17-19: fase de adulteração). *diferença entre os grupos na mesma semana ($p<0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). # diferença no grupo ao longo do tratamento ($p<0,05$, ANOVA de 1 via com repetição seguido de Newman-Keuls). + diferença entre o grupo C e L na mesma semana do tratamento ($p<0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

Tanto os animais do grupo D como os do P consumiram mais etanol (mL) do que os do grupo L ($F(2,21)= 12,99$, $p<0,001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls), e esses consumiram mais água do que todos os outros grupos ($F(3,30)= 51,01$, $p<0,0001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls; gráfico 7). Comparações feitas dentro do mesmo grupo revelaram que o consumo de etanol (mL) para os consumidores "dependentes" e "pesados" foi significativamente maior do que o consumo de água ($t_D= -5,49$, $p<0,001$; $t_P= -7,94$, $p<0,0001$, respectivamente, teste t independente). Já

no grupo com perfil de consumidor “leve” o consumo de água foi significativamente maior do que o de etanol ($t_L = 6,32$, $p < 0,0001$, teste t independente).

GRÁFICO 7 – PREFERÊNCIA ENTRE ÁGUA E ETANOL POR GRUPO



NOTA: média \pm ep do consumo a partir da nona semana de tratamento. *diferença entre os todos os grupos ($p < 0,05$ pelo menos, ANOVA seguido de Newman-Keuls). #diferença entre o consumo de água e etanol no mesmo grupo ($p < 0,05$ pelo menos, teste t independente).

Comparações entre os grupos mostraram que as médias do consumo de etanol (g/kg) do grupo L foram significativamente menores do que a dos outros dois grupos nas últimas quatro semanas de livre escolha ($F(2,21) = 14,25$, e na fase de reapresentação ($F(2,21) = 16,82$, $p < 0,0001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls), e o grupo D apresentou a média do consumo de etanol significativamente maior do que a dos outros grupos durante a fase de adulteração ($F(2,21) = 16,49$, $p < 0,0001$; figura 28A). O grupo D e o grupo L não apresentaram diferenças significativas entre as médias de consumo de etanol (g/kg) nas diferentes fases do tratamento ($F_D(2,10) = 1,50$; $F_L(2,12) = 1,34$, $p > 0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). O grupo P apresentou diferenças significativas nas médias do consumo de etanol (g/kg) entre todas as fases experimentais, indicando uma diminuição do consumo ao

longo do tratamento ($F_P(2,20) = 30,67$, $p < 0,0001$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls).

O grupo L teve médias de consumo de água significativamente maiores em quase todas as fases experimentais quando comparado com os demais grupos, exceto durante as últimas 4 semanas de livre escolha em relação ao grupo controle e durante a abstinência em relação aos grupos D e P (últimas quatro semanas de livre escolha: $F(3,30) = 39,29$, $p < 0,0001$; abstinência: $F(3,30) = 3,20$, $p < 0,05$; reapresentação: $F(3,30) = 50,26$, $p < 0,0001$ e adulteração: $F(3,30) = 30,66$, $p < 0,0001$, ANOVA seguido de Newman-Keuls; figura 28B). O grupo controle, por sua vez, apresentou médias significativamente maiores de consumo do que os grupos D e P, exceto durante a abstinência. Comparações dentro do mesmo grupo revelaram que os grupos L e C não apresentaram alterações significativas entre suas médias de consumo ao longo do tratamento ($F_L(3,18) = 2,61$; $F_C(3,27) = 0,25$, $p > 0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). Tanto o grupo D quanto o P apresentaram médias significativamente maiores do consumo de água durante a abstinência quando comparado com as outras fases ($F_D(3,15) = 43,91$; $F_P(3,30) = 40,94$, $p < 0,0001$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls).

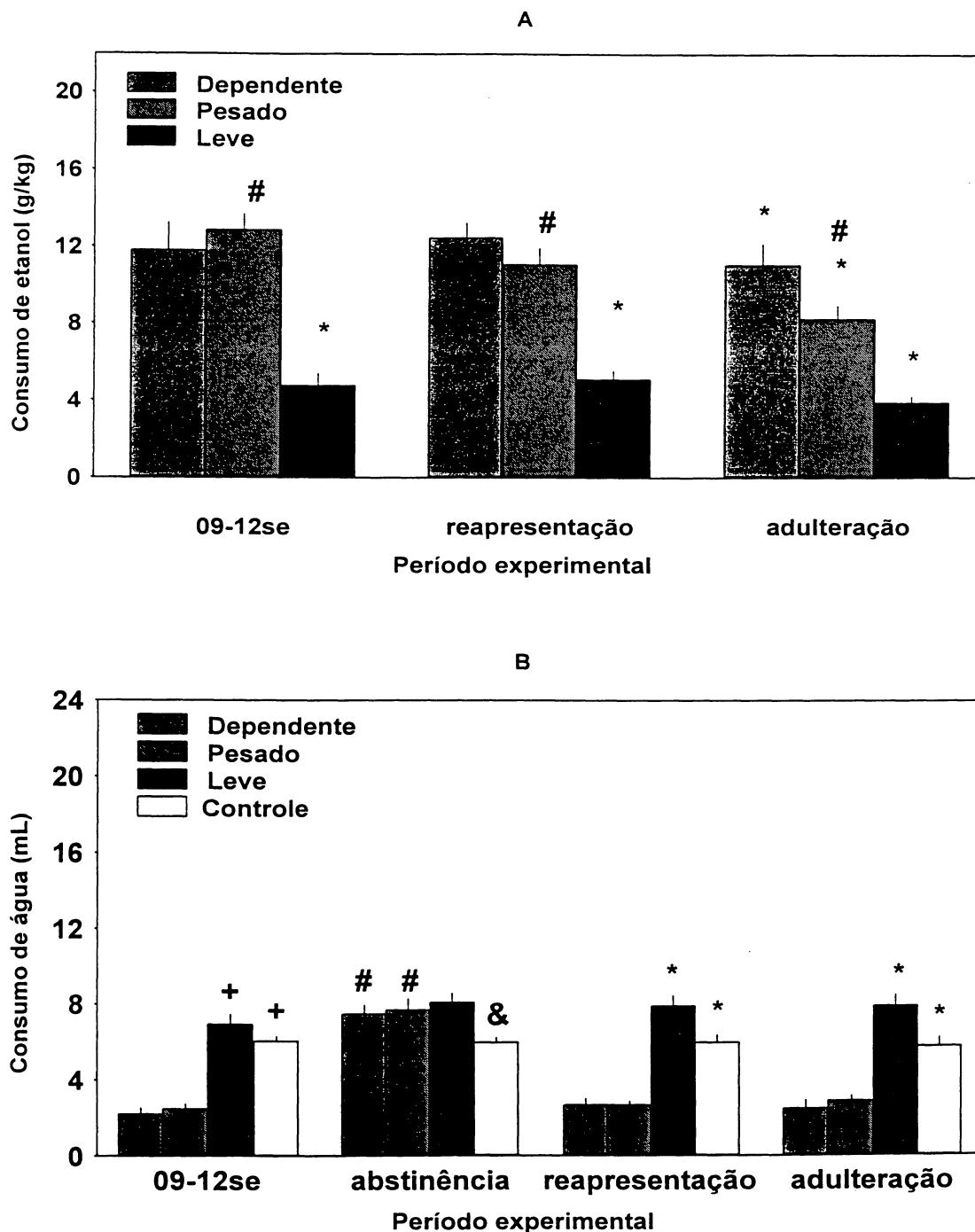


FIGURA 28 – CONSUMO DE ETANOL E ÁGUA DOS GRUPOS: A: Média \pm ep do consumo de etanol dos grupos durante as fases: últimas 4 semanas de livre escolha (09-12se), rerepresentação e adulteração. B: Média \pm ep do consumo de água durante as fases de tratamento: últimas 4 semanas de livre escolha (09-12se), abstinência, rerepresentação e adulteração. *diferença entre os grupos na mesma fase experimental ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls); #diferença dentro do mesmo grupo entre as fases experimentais ($p < 0,05$, ANOVA de 1 via com repetição seguido de Newman-Keuls). *diferença em relação aos grupos D e P ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). &diferença em relação ao grupo L ($p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

4.3 EXPERIMENTO 3: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL BASAL

Os valores das variáveis comportamentais observadas durante todos os testes comportamentais (procedimentos descritos no item 3.3.1) para cada grupo se encontram nas Tabelas 1 a 6 no apêndice 3.

O grupo D apresentou o maior tempo de permanência na área central do labirinto em cruz elevado quando comparado com os outros grupos, sendo essa diferença significativa ($F(3,30) = 3,56$, $p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls), (tabela 1 no apêndice 3).

4.4 EXPERIMENTO 4: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL NA ABSTINÊNCIA

No labirinto em cruz elevado o grupo D, em relação aos valores obtidos na avaliação basal, reduziu significativamente suas entradas no braço aberto ($t_D = 4,24$, $p < 0,01$, teste t dependente); o grupo controle reduziu significativamente suas entradas no braço fechado ($t_C = 2,71$, $p < 0,05$, teste t dependente); e o grupo L aumentou seu tempo de permanência no meio ($p = 0,07$), (tabela 1 no apêndice 3). O grupo D revelou número significativamente menor de posições esticadas no braço aberto do labirinto em relação aos demais grupos ($H(3,34) = 11,31$, $p < 0,01$; teste de Kruskal-Wallis).

No campo aberto, a comparação com os valores do teste basal mostrou que os grupos D e P reduziram a ambulação, atingindo significância apenas para o grupo D ($t_D = 5,27$, $p < 0,01$, teste t dependente); os grupos D e controle reduziram significativamente o número de elevações ($t_D = 5,04$, $p < 0,01$, $t_C = 2,72$, $p < 0,05$, teste t dependente), enquanto que o grupo P também mostrou redução sem significância para essa variável ($p = 0,06$). O grupo D mostrou um menor número de elevações ($p = 0,06$) e também um menor número de posições esticadas na periferia ($p = 0,07$) do campo aberto em relação aos demais grupos (tabelas 3 e 4 no apêndice 3).

Na caixa de movimentação espontânea todos os grupos reduziram o número de elevações, porém foi significativo apenas para o grupo P ($t_P = 2,96$, $p < 0,05$, teste t dependente), (tabelas 5 e 6 no apêndice 3). Todos os grupos também reduziram o

tempo de autolimpeza, entretanto, sem significância para os grupos D e L ($Z_P = 2,80$, $p < 0,01$; $Z_C = 2,29$, $p < 0,05$; teste de Wilcoxon).

4.5 EXPERIMENTO 5: AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DA SENSIBILIZAÇÃO AO EFEITO ESTIMULANTE AGUDO DE ETANOL

Durante os testes após administração aguda de etanol um camundongo do grupo D não chegou a completar a bateria de testes nos aparelhos, sendo, portanto excluído dessas análises estatísticas, inclusive quando foram comparadas as médias dos testes basais com as dos testes após aplicação de etanol.

As correlações entre a ambulação medida na caixa de movimentação espontânea sob efeito de dose aguda de etanol e o consumo de etanol (g/kg) nas diferentes fases do tratamento (últimas quatro semanas de livre escolha, figura 29A; semanas de reapresentação, figura 29B; semanas de adulteração, figura 29C) não foram significativas. E, esse mesmo padrão foi observado para as correlações entre a ambulação medida no campo aberto e o consumo de etanol nas diferentes fases experimentais (últimas quatro semanas de livre escolha, $r = 0,00$; semanas de reapresentação, $r = -0,02$; semanas de adulteração, $r = -0,02$).

O grupo P aumentou significativamente sua ambulação no campo aberto comparado ao seu valor basal ($t_P = -4,3$, $p < 0,01$; teste t dependente) e foi maior do que a dos demais grupos atingindo significância em relação ao grupo controle testado sob salina ($F(3,29) = 5,41$, $p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). Além disso, esse grupo aumentou seu tempo de autolimpeza em comparação com seu valor basal ($p = 0,07$). O grupo controle reduziu seu tempo de latência no campo aberto em comparação com seu tempo basal ($p = 0,06$). Todos os grupos reduziram significativamente o número de elevações no campo aberto em relação aos valores medidos no teste basal ($t_D = 3,72$; $t_P = 3,08$; $t_L = 5,25$; $t_C = 3,90$; $p < 0,05$; teste t dependente), (tabelas 3 e 4 no apêndice 3).

Na caixa de movimentação espontânea o grupo P teve a maior ambulação e o grupo controle a menor em relação aos outros grupos ($F(3,29) = 3,45$, $p < 0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls). Em relação a ambulação basal medida nesse aparelho, o grupo P teve um aumento significativo e o grupo controle uma redução

significativa ($t_p = -4,02$; $t_c = 3,52$, $p < 0,01$, teste t dependente). Todos os grupos reduziram o tempo de autolimpeza nesse aparelho sendo essa diferença significativa para o grupo controle ($Z_c = 2,45$, $p < 0,05$; teste de Wilcoxon). E, para todos os grupos também foi observada uma redução significativa do número de elevações em relação ao medido no teste basal como no campo aberto (tabelas 5 e 6 no apêndice 3).

No labirinto em cruz elevado a comparação com o teste basal revelou para o grupo P uma redução não significativa no tempo de permanência no braço aberto do labirinto ($p = 0,08$) e um aumento também não significativo no tempo de permanência no braço fechado ($p = 0,09$). Porém, atingiu significância estatística para o número de entradas nesse braço e para a redução no tempo de latência ($t_{EF} = -3,84$, $p < 0,01$; $t_{TL} = 2,52$, $p < 0,05$; teste t dependente), (tabela 1 no apêndice 3).

Para a análise individual da expressão da sensibilização nos camundongos foi calculado o intervalo de confiança ($Média_{basal} +$ ou -2 desvios padrões) a partir da ambulação medida na caixa de movimentação espontânea no teste basal. Os animais que obtiveram uma locomoção acima desse limite foram considerados sensibilizados ao efeito estimulante de etanol (Gráfico 8). Foram encontrados dois animais no grupo D (2 em 5 animais), sete no grupo P (7 em 11 animais) e três no grupo L (3 em 7 animais) com a atividade locomotora superior ao limite de confiança mencionado anteriormente.

As comparações entre os grupos das proporções de animais em cada grupo que aumentaram sua atividade locomotora sob efeito de etanol, ou seja, que expressaram sensibilização não revelaram diferenças estatísticas (D e P: $p = 0,18$; D e L: $p = 1,00$; L e P: $p = 0,34$; teste McNemar). As comparações entre os grupos das proporções de animais em cada grupo que mudaram seu padrão de atividade locomotora sob efeito de etanol também não revelaram significância estatística (D e P: $p = 0,60$; D e L: $p = 1,00$; L e P: $p = 0,63$; teste Fisher).

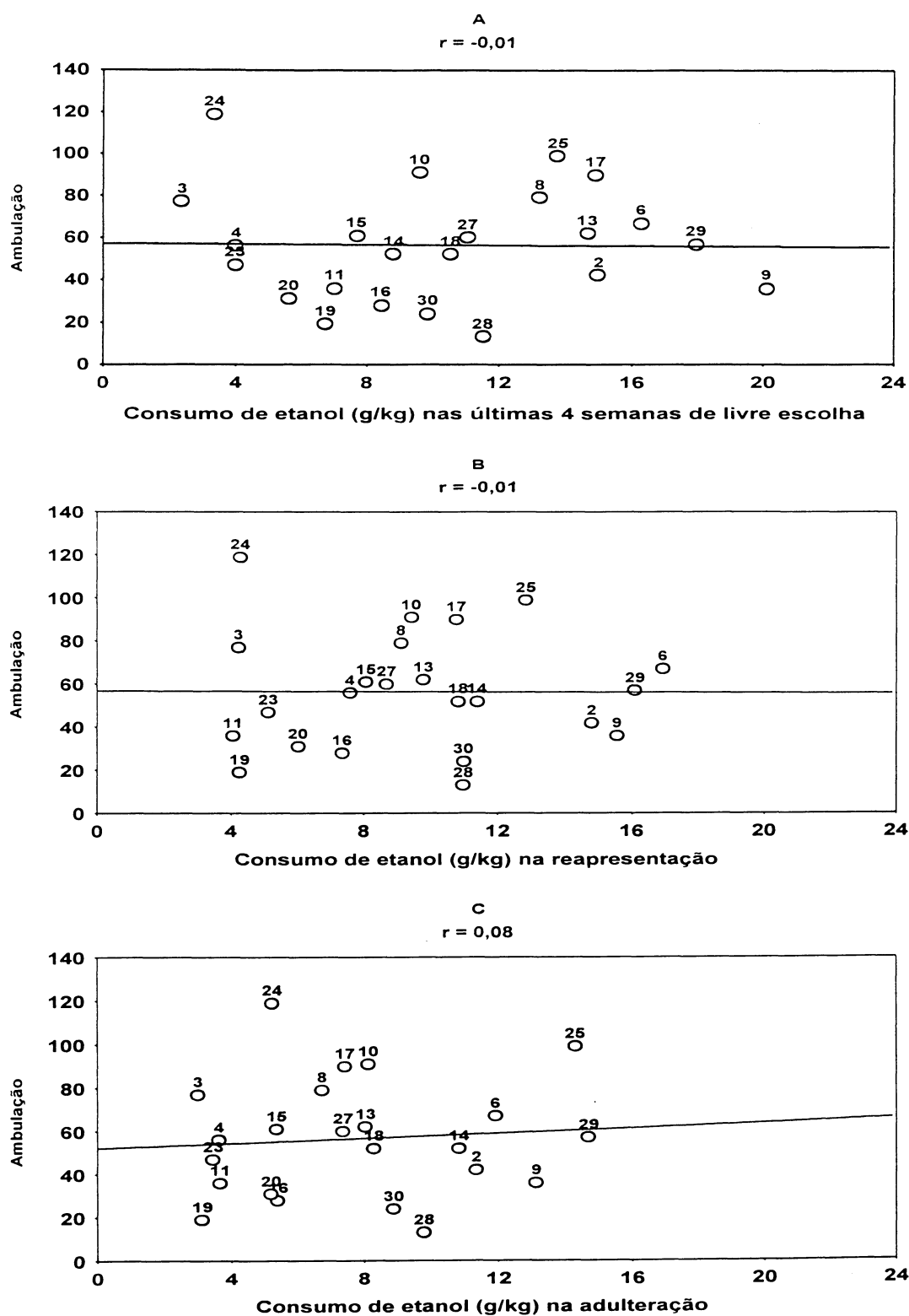
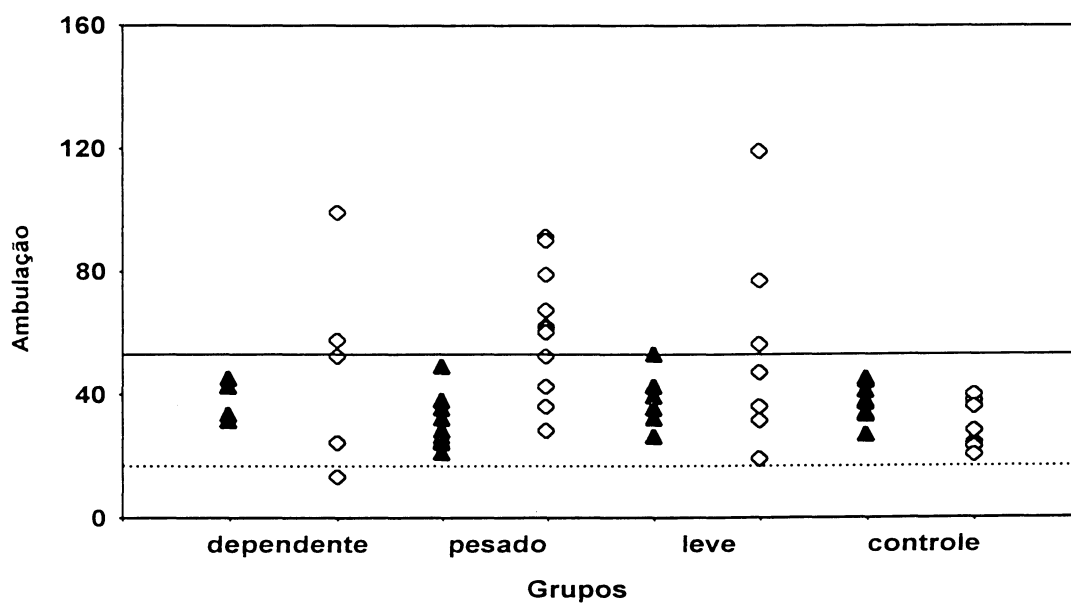


FIGURA 29 – CORRELAÇÃO ENTRE AMBULAÇÃO E CONSUMO: correlações de Pearson entre as médias do consumo de etanol de todos os camundongos nas diferentes fases (A: nas últimas quatro semanas de livre escolha; B: na fase de reapresentação; C: na fase de adulteração) e a ambulação medida na caixa de movimentação espontânea após dose desafio de etanol (2 g/kg i.p.).

GRÁFICO 8 – REPRESENTAÇÃO INDIVIDUAL DA AMBULAÇÃO MEDIDA NA CAIXA DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA



NOTA: Representação dos valores individuais do número de ambulação na caixa de movimentação espontânea no teste basal (▲) e após administração aguda de etanol (2g/kg) para os grupos D, P e L ou salina para o grupo controle (◇). As linhas representam: (-) média + 2 desvios padrões e (- - -) média - 2 desvios padrões da ambulação para todos os animais dos grupos D, P e L no teste basal.

5 DISCUSSÃO

A respeito do fenômeno da sensibilização, foi demonstrado que diferenças no padrão de consumo podem interferir com o desenvolvimento da sensibilização ao efeito estimulante do etanol, porém não no mesmo sentido proposto pela Teoria da Sensibilização (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003), ou seja, os camundongos que apresentaram um perfil de consumidores 'dependentes' não manifestaram a maior atividade locomotora avaliada sob efeito da dose desafio de etanol.

No teste com a dose desafio de etanol, cerca de 52% dos camundongos que foram expostos ao tratamento por livre escolha exibiu aumento da atividade locomotora em relação aos valores médios basais dos animais em geral (limite de confiança), sendo que desses, 17% eram do grupo com consumo 'dependente', 25% do grupo com consumo 'leve' e 58% eram do grupo com consumo 'pesado'. Dentre os camundongos do grupo com perfil de consumo 'dependente', a maioria (60%) não expressou a sensibilização ao efeito estimulante do etanol. Contudo não foram encontradas diferenças estatísticas na proporção de animais sensibilizados entre os grupos e também dentro do mesmo grupo, demonstrando que o padrão de consumo parece não estar relacionado com a expressão da sensibilização. Em concordância com os dados obtidos no presente trabalho pode-se propor então que a susceptibilidade à sensibilização envolveria características individuais responsáveis por outros aspectos comportamentais e não com o de procura pela droga.

Mesmo apresentando a maior média de ambulação no teste basal, o grupo com perfil de consumo 'dependente' acabou tendo uma diminuição de sua atividade locomotora quando sob efeito de dose desafio de etanol. A média da atividade locomotora do grupo de camundongos não dependentes com consumo 'pesado' foi maior do que a dos demais grupos atingindo significância em relação ao grupo controle, revelando que o grupo que exibiu a maior resposta ao efeito estimulante do etanol não possuía um comportamento de consumidor 'dependente', ao contrário do que é preconizado pela Teoria da Sensibilização (ROBINSON; BERRIDGE, 2000, 2001, 2003). Além disso, o grupo 'pesado' apresentou um perfil ansiogênico em seu comportamento após administração da dose desafio de etanol, manifestado através

de uma diminuição significativa no tempo de latência do labirinto em cruz elevado, um aumento significativo no número de entradas no braço fechado, um aumento no tempo de permanência no braço fechado e uma redução no tempo de permanência no braço aberto sendo que para esses dois últimos parâmetros não foi atingida significância estatística. Apesar do grupo controle ter sua locomoção reduzida de forma significativa no decorrer do experimento pode-se dizer que o aumento observado na locomoção do grupo com perfil de consumidor 'pesado' foi decorrente da exposição aguda ao etanol devido à comparação com a média de seu valor basal.

Tanto a redução no número de elevações como no tempo de autolimpeza pode ser considerada como um efeito do tempo de exposição ao tratamento ou habituação, pois também foram observadas no grupo controle. É conhecido que o isolamento constitui-se num instrumento para estressar o animal e interfere com variáveis comportamentais como ansiedade e também com o consumo de etanol (HEYNE et al., 2000). Estudos têm relatado um aumento na densidade dos receptores dopaminérgicos D₁ e D₃ de camundongos após o isolamento, e isso poderia explicar as alterações no comportamento 'emocional' do animal, porém esse efeito parece ser reversível (SETH, 2003).

A análise dos coeficientes de correlação entre a média do consumo de etanol (g/kg) nas diferentes fases de tratamento e a atividade locomotora medida no campo aberto e na caixa de movimentação espontânea sob efeito agudo de etanol mostrou uma ausência de relação entre essas duas grandezas. Mais uma vez, esses resultados podem indicar que um consumo prévio "abusivo" ou "dependente" de etanol não leva necessariamente a um aumento na atividade locomotora induzida pelo etanol, sugerindo também que a sensibilização não está relacionada com padrão de consumo.

A complexidade do processo de sensibilização da atividade psicomotora envolve fatores individuais (CAILHOL; MORMÈDE, 1999), ambientais (ANAGNOSTARAS; SCHALLERT; ROBINSON, 2002), estresse (PIAZZA et al., 1990; TRZCIŃSKA et al., 2002), e também os relacionados à técnica utilizada como duração do tratamento (KAYIR; UZBAY, 2002), doses das drogas (DAVIDSON et al., 2002). Alguma mudança nesses fatores pode influenciar a expressão do comportamento de sensibilização, dificultando ou facilitando essa resposta

comportamental. Vale ressaltar que mudanças ambientais estariam influenciando todos os animais em experimentação.

No grupo com perfil de consumo 'dependente' pode ter ocorrido uma neuroadaptação que desenvolveu uma maior motivação para consumir etanol, ou *craving*, demonstrada pelo desejo persistente pela droga mesmo em condições caracterizadas como sendo aversivas para o animal (consumo sem redução durante a adulteração). Porém, essa neuroadaptação não promoveu um aumento da resposta locomotora do grupo de 'dependentes' quando comparado com seu valor basal e nem uma maior atividade locomotora no teste com dose aguda de etanol quando comparado com a dos outros grupos. Isto sugere que o consumo prolongado e abusivo dos animais "dependentes" pode ter modificado sistemas neurotransmissores relacionados com os efeitos reforçadores do etanol e não com a sensibilização ao efeito estimulante.

A auto-administração de uma droga leva a alterações na neurotransmissão de determinados centros do cérebro (WOLFFGRAMM; HEYNE, 1995; FADDA; ROSSETTI, 1998; LITTLETON, 2001). Os centros cerebrais envolvidos com a formação do desejo de buscar e usar a droga são influenciados pela 'emoção' e controlam determinadas respostas comportamentais, como também motivacionais e as relacionadas com atividade locomotora. Num estudo de localização de sítios dopaminérgicos D₂ por autorradiografia ficou demonstrado que camundongos sensibilizados ao efeito estimulante do etanol apresentaram aumento de sítios D₂ em áreas cerebrais relacionadas à atividade locomotora (caudado-putamen), (SOUZA-FORMIGONI et al., 1999). Porém, nas regiões relacionadas com motivação e 'emoção' (núcleo accumbens, bulbo olfatório) não foram encontradas diferenças.

Análises autorradiográficas com o antagonista do receptor glutamatérgico do tipo NMDA, dizocilpina, revelaram alterações em regiões envolvidas com a motivação e formação da memória (núcleo accumbens e córtex pré-frontal) em camundongos não sensibilizados e não nos sensibilizados (QUADROS et al., 2002).

Em outro estudo foi verificado que microinjeções de agentes dopaminérgicos (agonistas e antagonistas) no núcleo accumbens não alterou o paladar do animal, sugerindo que a dopamina não teria um papel na palatabilidade ou componente afetivo que conduziria ao consumo da droga, mas ao contrário do cogitado pela Teoria da Sensibilização reduziu o consumo de etanol evidenciando que tal

neurotransmissor pode não estar envolvido com a determinação do valor do incentivo pela droga (KACZMAREK; KIEFER, 2000).

Com a inserção da informática na área de ciências biológicas foi criado um modelo computacional baseado no aprendizado de prever eventos que seriam gratificantes e ações baseadas em preferências preconcebidas, a fim de avaliar a Teoria da Sensibilização e o papel da dopamina nesse contexto. Foi encontrado que a dopamina parece estar envolvida com eventos relacionados com a antecipação de uma recompensa e motivação, no entanto, falhou ao tentar relacionar o padrão de atividade locomotora e o consumo da droga como descrito pela Teoria (McCLURE; DAW; MONTAGUE, 2003).

Esses achados corroboram as observações obtidas no presente trabalho, pois demonstra que existem mecanismos centrais diferentes relacionados ao desenvolvimento de sensibilização e ao comportamento de procura pela droga (*craving*).

No presente trabalho foi possível caracterizar diferentes padrões de consumo nos camundongos expostos ao tratamento baseado no paradigma de livre escolha, bem como, observar aspectos comportamentais que podem estar contribuindo para o desenvolvimento da dependência. Um aspecto importante foi que o padrão de consumo dos animais considerados “dependentes” se restabeleceu após um período de abstinência ao etanol e se manteve mesmo quando a solução de etanol foi adulterada com quinina assumindo características aversivas ao consumo.

No modelo desenvolvido por WOLFFGRAMM e HEYNE (1995) o tempo de duração total do experimento para caracterizar diferentes padrões de consumo era de um a dois anos, enquanto que no presente trabalho conseguimos distinguir um perfil de consumo dependente em um período de tempo de tratamento bem inferior (dezenove semanas), sendo também possível observar que os camundongos conseguiram desenvolver um padrão de consumo estável ao longo do tratamento, demonstrado pelos coeficientes de correlação positivos entre as médias do consumo de etanol nas diferentes fases do experimento. Além disso, esse modelo permitiu caracterizar diferentes padrões de consumo (dependente, não dependente com alto e baixo consumo) baseados em diferenças individuais à semelhança do que se

observa em humanos. Outra diferença em relação ao modelo proposto pelos autores citados acima foi a utilização de camundongos ao invés de ratos, o que também contribuiu para a realização de um tratamento em um prazo inferior, visto que o tempo de vida de um camundongo é menor do que o de um rato.

De acordo com WOLFFGRAMM e colaboradores (2000), a divisão do tratamento em quatro fases permite distinguir os diferentes padrões de consumo possibilitando caracterizar o animal como consumidor “dependente” ou “controlado”. A fase inicial de tratamento permite que o animal se adapte a presença constante da droga e que se inicie uma neuroadaptação que irá modular o impulso de consumir a droga. Durante a maior parte do experimento o animal poderá manifestar sua preferência entre o que consumir, constituindo uma característica muito importante em um modelo de dependência, pois permite avaliar se a escolha do animal é contínua ao longo do tempo. Em estudos realizados pelo autor supracitado, foi observado que a administração forçada da droga não leva a formação da memória do uso da droga devido à diferença que cada tratamento exerce sobre a motivação de consumir a droga, e essa memória é imprescindível para o desenvolvimento da dependência. Numa situação de livre acesso, o animal pode determinar a dose e o padrão temporal de ingestão da droga (HEYNE et al., 2000), e esses fatores podem contribuir para a formação do comportamento de procura pela droga.

No início do presente experimento houve uma grande variabilidade no consumo das soluções etílicas ofertadas, sendo que nas últimas semanas de livre escolha já foi possível observar uma maior estabilidade no padrão de consumo. Outros autores também demonstraram que durante as primeiras semanas de acesso à droga há uma grande variação na quantidade da droga auto-administrada pelo animal, alternando dias de alto consumo com baixo (HEYNE et al., 2000).

Os camundongos exibiram diferentes perfis de consumo, enquanto que alguns desde o início já demonstravam preferência pela solução etílica, outros só vieram a apresentar tal preferência após algumas semanas de tratamento. O mesmo foi relatado para a preferência entre as diferentes soluções etílicas ofertadas (5% e 10% v/v). Em nenhum momento foi observada uma mudança abrupta no padrão de consumo dos camundongos.

A diferença encontrada no grau de escolha entre ingerir ou não a droga, determina o perfil de consumo do indivíduo. Na tentativa de se estabelecer uma

analogia entre os critérios estipulados pela *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4º, (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994) para diagnosticar um quadro de dependência em humanos e o que foi observado no trabalho atual pode-se ressaltar que o animal que mostrou um perfil de consumidor “dependente” foi caracterizado: (1) por apresentar preferência pelas soluções etílicas em relação à água; (2) pela perda de controle sobre o consumo de etanol medida pelo consumo alto e persistente nas fases de reapresentação ou adulteração; (3) consumo de grandes quantidades por longos períodos; (4) consumo de etanol mesmo após a adulteração com quinina, que torna as soluções aversivas, e que pode ser interpretado como “desejo persistente” pelo etanol.

A transição entre consumo controlável e incontrolável de etanol ocorre pelo menos em duas etapas: primeiro há um aumento do desejo pelo etanol, que pode ser controlado (por exemplo, redução do consumo quando há a ocorrência de algum estímulo aversivo), e em segundo a perda de controle. A transição do consumo controlado para a fase de aumento da demanda pela droga é demonstrada claramente em ratos que consomem etanol em um modelo semelhante ao atual (WOLFFGRAMM et al., 2000).

A variação entre as médias individuais do consumo de etanol de todos os animais foi relativamente grande. Isso pode ser interpretado como resultado da própria variabilidade individual apresentada pelos camundongos, revelando que a quantidade de etanol necessária para induzir uma mudança neuroadaptativa que conduziria a diferentes comportamentos de consumo é muito variável.

Durante a abstinência o grupo com perfil de consumidor ‘dependente’ manifestou uma diminuição de sua atividade exploratória ou locomotora no campo aberto comparada com o valor basal, e também um menor número de posições esticadas no labirinto em cruz elevado comparado ao dos outros grupos evidenciando uma reação alterada ao medo que pode ser interpretado como a instalação de um quadro de “ansiedade” quando da retirada do etanol (BECKER, 2000). Normalmente, a ambulância diminuída no campo aberto é interpretada como uma reação emocional de medo que é considerada análoga à ansiedade manifestada em humanos (BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000) e que é observada na síndrome de abstinência ao etanol. Contudo outros dados da

literatura descrevem que animais com perfil de “dependente” apresentam um aumento da locomoção durante a síndrome de abstinência (ERDEN, 1999; SPANAGEL; HÖLTER, 1999, 2000). Essa divergência entre os resultados obtidos com os demais relatados na literatura pode ser devido a diferenças metodológicas, pois os referidos trabalhos realizavam administração forçada de etanol. Além disso, é bem documentado que a manifestação dos sintomas ou sinais decorrentes da abstinência etílica são modulados por vários fatores como quantidade ingerida da droga, padrão de exposição e duração da exposição à droga.

Ainda, os sintomas manifestados durante a síndrome de abstinência são em geral opostas às ações agudas da droga devido à nova “homeostasia” vigente no organismo, com base nisso pode-se inferir que essa redução da atividade locomotora poderia ser algo esperado para os animais que consumissem o etanol já que o efeito inicial de etanol é tido como estimulante. A manifestação da síndrome de abstinência é uma resposta contrária às mudanças homeostáticas ocorridas nos sistemas que medeiam os efeitos primários da droga (KOOB; KREEK, 1998).

Outro dado observado em todos os animais do grupo de ‘dependente’ foi o aumento no consumo de água durante toda essa fase, podendo indicar o componente psicológico de um desejo persistente pela droga durante o período de abstinência. Esse dado, juntamente com o último critério utilizado para caracterizar os animais, podem ser resultantes da motivação que mantém o comportamento de procura pela droga. Sintomas de abstinência podem não ser apenas uma consequência da exposição crônica à droga, mas também podem resultar de uma ingestão voluntária em decorrência da existência de um comportamento de dependência e tais sintomas podem ser separados em psíquicos e fisiológicos (HEYNE et al., 2000), sendo que a manifestação desses últimos pode não estar evidente variando conforme a dose ingerida e a susceptibilidade do indivíduo aos efeitos da droga. É difícil avaliar os sinais da síndrome de abstinência de etanol em animais que tiveram livre acesso à droga e mesmo estando presentes esses sinais não são indicativos de um comportamento de dependência. De acordo com Weiss (2000) a indução da síndrome de abstinência não é suficiente para promover a ingestão de etanol, pois os animais sujeitos a essa síndrome freqüentemente evitam o consumo para aliviar a angústia presente.

Foi observada uma redução do tempo de autolimpeza medido na caixa de movimentação espontânea em todos os grupos, contrapondo-se ao medido no campo aberto e a outros trabalhos descritos na literatura (HEYNE et al., 2000) que relataram um aumento no tempo de autolimpeza. Outro dado observado foi a redução do número de elevações para todos os grupos, sendo indício de uma redução da atividade locomotora ou exploratória do camundongo. Esses resultados podem ser decorrentes do isolamento ou da habituação e não do tratamento com etanol, já que o grupo controle também apresentou essas mesmas alterações.

Para alguns autores (HEYNE et al., 2000; WEISS, 2000; LITTLETON, 2001; ROBERTS et al., 2000) a fase de abstinência é essencial para que o indivíduo manifeste posteriormente o comportamento de dependência. A adaptação que o sistema nervoso central passa a sofrer na presença da droga é abruptamente interrompida com sua retirada e isso proporciona um novo equilíbrio no indivíduo, observado através da manifestação de sintomas físicos e psíquicos.

Um dos fatores que contribui para o estabelecimento de dependência de uma droga pode ser evitar os sintomas da abstinência (KOOB; LE MOAL, 1997; KOOB, 2000; KOOB; LE MOAL, 2001). Nessa situação, o indivíduo consome mais a droga para evitar os efeitos não prazerosos induzidos pela retirada da droga e que poderiam representar sintomas relatados em humanos como ansiedade, depressão e irritabilidade. O alívio desses sintomas, conhecido como reforçador negativo, parece apresentar um papel de extrema relevância no comportamento de dependência, tendo em vista que a neuroadaptação que se prossegue durante essa fase estaria mais diretamente relacionada com as recaídas e poderia propiciar a consolidação da memória do desejo de consumir a droga. Além do mais, pesquisas têm procurado focar as mudanças persistentes que ocorrem após o término dos sinais agudos da abstinência de drogas de abuso, com o intuito de avaliar possíveis alterações no sistema nervoso central, que estariam envolvidas no processo de procura contínua pela droga (BAILEY et al., 1998).

Na fase de reapresentação foram introduzidas novamente as soluções etílicas e os camundongos passaram a consumir o etanol como no início do tratamento. Essa fase, juntamente com a da adulteração, revelam o comportamento de procura da droga pelos animais, sendo importante para avaliar o desejo

duradouro pela droga. A maioria dos camundongos dos grupos com perfil de consumidor 'dependente' e 'pesado' não manifestou um aumento significativo no consumo da droga, nem uma maior preferência pela solução de maior concentração (etanol 10%). Para SPANAGEL e HÖLTER (1999) esse efeito de privação do etanol manifestado pelo aumento do consumo de etanol após a fase de abstinência é mais pronunciado na primeira hora de exposição à droga e depois se estabiliza. Como no presente trabalho o consumo de etanol era medido a cada dois dias, esse efeito inicial manifestado nas primeiras horas pode ter sido mascarado pelo consumo total. Segundo WOLFFGRAMM e colaboradores (2000) esse efeito está mais relacionado com o consumo controlado do que com a dependência, sendo o mesmo transitório desaparecendo após um curto período de tempo enquanto que o comportamento "aditivo" seria duradouro e persistiria mesmo sob condições aversivas.

Na fase de adulteração, primordial para classificar os animais de acordo com seu padrão individual de consumo, as soluções etílicas foram acrescidas de quinina para deixar o sabor amargo. Em estudos realizados por WOLFFGRAMM e colaboradores (2000) foi observado que o consumo de uma solução que contém apenas quinina é altamente reduzido, mas na presença do etanol os animais dependentes não reduzem o consumo da solução adulterada. Segundo esses autores essa fase perfaz um modelo animal de *craving* e reflete a motivação para procurar a droga nos animais com comportamento de dependente, assim como nos consumidores controlados. A quantidade da droga ingerida apesar do estímulo aversivo pode ser considerada como um índice da dificuldade em parar o uso da droga (HEYNE et al., 2000). Portanto, o critério mais importante para considerar o animal como dependente, no presente trabalho, foi a não redução do consumo de etanol nas fases de reapresentação e adulteração em relação ao seu próprio consumo prévio, sugestivo de "procura" pela droga ou *craving* (ANTON, 1999).

A dose escolhida para adulterar o sabor foi de 0,005g/L com base nos testes realizados para avaliar o grau de aversividade para as concentrações testadas que variaram de 0,001g/L a 0,05g/L de cloridrato de quinina. Na literatura encontra-se a dose de 0,1g/L de quinina empregada para ratos (SPANAGEL; HÖLTER, 1999; ERAVCI et al., 1999; WOLFFGRAMM et al., 2000), porém essa dose se mostrou muito aversiva para os camundongos reduzindo drasticamente o consumo das

soluções étlicas (PIGATTO, 2002), já que a auto-administração oral é influenciada por muitas variáveis não farmacológicas, incluindo gosto e paladar (CUNNINGHAM; FIDLER; HILL, 2000).

O reforço positivo da droga, demonstrado pelos efeitos prazerosos (recompensa, euforia) exercidos sobre a mente, representa outro importante fator contribuinte para o consumo do etanol. As propriedades de reforço das drogas de abuso são vistas como o principal fator que leva ao comportamento inicial de procura da droga e ao subsequente estado de dependência (ROBERTS; KOOB, 1997; BOERNGEN-LACERDA; SOUZA-FORMIGONI, 2000).

Tanto fatores ambientais (agrupamento ou isolamento social), como características individuais (agressividade, subordinação, genótipo, sexo) exercem considerável influência sobre a motivação para consumir a droga (HEYNE; WOLFFGRAMM, 1998; SLUYTER et al., 2000; LYNCH; ROTH; CARROLL, 2002). De qualquer forma, pode-se observar com os resultados observados nesse trabalho que a resposta comportamental do indivíduo frente ao uso de uma droga psicotrópica pode ser tomada como consequência da avaliação do “benefício emocional” que a droga é capaz de promover. Contudo, a valorização desse “benefício” é variada e prediz a perda de controle sobre o consumo da droga, resultando em uma escolha modulada tanto pelos efeitos reforçadores positivos quanto negativos da droga.

A respeito da avaliação comportamental antes do início do tratamento denominada de basal, pode-se ver que os animais do grupo com perfil de consumidor ‘dependente’ expressaram um componente de ansiedade através do maior tempo de permanência na área central do labirinto em cruz elevado e também uma maior atividade exploratória no campo aberto. Isso sugere que talvez esse comportamento pré-existente no animal possa ter contribuído para a motivação de consumir a droga na tentativa de amenizar um estado ansioso pré-existente, ou pela maior motivação na procura dos efeitos reforçadores positivos e negativos da droga.

Tem se proposto que a ansiedade pode ser um fator contribuinte para o início do consumo de etanol, por reduzir a tensão em ansiosos ou em organismos estressados (SPANAGEL et al., 1995), porém em linhagens de ratos selecionados para ansiedade foi mostrado que essa relação pode não ocorrer necessariamente

(HENNIGER et al., 2002). Em humanos a procura pelo etanol pode ser feita para amenizar sintomas relacionados a transtornos psiquiátricos pré-existentes como transtornos de ansiedade, de humor e de personalidade, ou decorrentes do uso crônico (WEISS, 2000; U. S. CONGRESS ON ALCOHOL AND HEALTH, 2000).

Embora os resultados do presente trabalho possam contribuir para o estudo da dependência, ainda se faz necessário o desenvolvimento de mais estudos do comportamento da dependência das drogas. Assim, a análise de outros aspectos comportamentais relacionados com esse transtorno e também o estabelecimento de uma relação com os mecanismos neurobiológicos responsáveis por tal neuroadaptação seria de grande valia e imprescindíveis para o esclarecimento das causas de um comportamento tão complexo.

6 CONCLUSÃO

Ao contrário do que a Teoria da Sensibilização estabelece o padrão de consumo 'dependente' pareceu não induzir um aumento da atividade locomotora em resposta à administração aguda de etanol quando comparado com os outros padrões de consumo, sugerindo mecanismos neuronais diferentes envolvidos na motivação para o desejo de consumir etanol e os da sensibilização ao etanol. Os animais não dependentes com consumo 'pesado' desenvolveram a neuroadaptação expressa como sensibilização locomotora, pois manifestaram a maior locomoção após dose aguda de etanol. Isso levanta a hipótese de que a sensibilização poderia consistir de um fenômeno independente ao desenvolvimento de dependência e não predisponente como estipula a Teoria da Sensibilização.

Em relação ao modelo, foi possível caracterizar diferentes padrões de consumo entre os camundongos expostos ao paradigma de livre escolha realizado em um curto período de tempo.

Os animais com perfil de consumidor 'dependente' apresentaram uma neuroadaptação, manifestada como *craving*, demonstrada através de sua preferência pelo etanol e consumo continuado mesmo em situações aversivas. Esse grupo também apresentou um perfil ansiogênico durante a abstinência de etanol, manifestado através da alteração em sua atividade locomotora e resposta ao medo. Além disso, esse grupo mostrou um comportamento sugestivo de ansiedade anterior ao tratamento, expondo a existência de um possível componente psicobiológico que poderia contribuir para a motivação ou desejo de consumir a droga. Isso é sugestivo de que os efeitos reforçadores positivos e negativos podem ter exercido alguma influência sobre o comportamento de procura pela droga, contribuindo assim para a manutenção desse comportamento.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. Washington, DC: American Psychological Association, 4°, 1994.

ANAGNOSTARAS, S.G., SCHALLERT, T., ROBINSON, T.E. Memory Processes Governing Amphetamine-induced Psychomotor Sensitization. **Neuropsychopharmacology**, v. 26, nº 6, p. 703-715, 2002.

ANNI, H., ISRAEL, Y. Proteomics in Alcohol Research. **Alcohol Research & Health**, v. 26, nº 3, p. 219-232, 2002.

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

BAILEY, C. P., MANLEY, S.J., WATSON, W.P., WONNACOTT, S., MOLLEMAN, A., LITTLE, H.J. Chronic ethanol administration alters activity in ventral tegmental area neurons after cessation of withdrawal hyperexcitability. **Brain Research**, v. 803, p. 144-152, 1998.

BAUCO, P., WANG, Y., WISE, R.A. Lack of sensitization or tolerance to the facilitating effect of ventral tegmental area morphine on lateral hypothalamic brain stimulation reward. **Brain Research**, v. 617, p. 303-308, 1993.

BECKER, H.C. Animal Models of Alcohol Withdrawal. **Alcohol Research & Health**, v. 24, nº 2, p. 105-113, 2000.

BÍBLIA, A.T. GÊNESIS. Português. **Bíblia Sagrada**: Paulo Matos Peixoto (Ed.). Trad. de: Padre Antonio Pereira de Figueiredo. São Paulo: Editora Paumape Ltda., 1979, cap. 9, vers. 20 - 21.

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

BOWERS, B.J. Applications of Transgenic and Knockout Mice in alcohol Research. **Alcohol Research & Health**, v. 24, n° 3, p. 175-184, 2000.

CAILHOL, S., MORMÈDE, P. Strain and sex differences in the locomotor response and behavioral sensitization to cocaine in hyperactive rats. **Brain Research**, v. 842, p. 200-205, 1999.

CARTA, M., OLIVERA, D.S., DETTMER, T.S., VALENZUELA, C.F. Ethanol withdrawal up regulates kainate receptors in cultured rat hippocampal neurons. **Neuroscience Letters**, v. 327, p. 128-132, 2002.

CHESTER, J.A., CUNNINGHAM, C.L. GABA_A receptor modulation of the rewarding and aversive effects of ethanol. **Alcohol**, v. 26, p. 131-143, 2002.

CUNNINGHAM, C.L. FIDLER, T.L. HILL, K.G. Animal models of alcohol's motivational effects. **Alcohol Research & Health**, v. 24, n° 2, p. 85-92, 2000.

DAVIDSON, C., LAZARUS, C., LEE, T.H., ELLINWOOD, E.H. Behavioral sensitisation is greater after repeated versus single chronic cocaine dosing regimens. **European Journal of Pharmacology**, v. 441, p. 75-78, 2002.

DI CHIARA, G. Alcohol and Dopamine. **Alcohol Health & Research World**, v. 21, n° 2, p. 108-113, 1997.

DODD, P.R., BECKMANN, A.M., DAVIDSON, M.S., WILCE, P.A. review Glutamate-mediated transmission, alcohol, and alcoholism. **Neurochemistry International**, v. 37, p. 509-533, 2000.

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

DUDLEY, R. Fermenting fruit and the historical ecology of ethanol ingestion: is alcoholism in modern humans an evolutionary hangover? **Addiction**, v. 97, p. 381-388, 2002.

EHRINGER, M.A., SIKELA, J.M. Genomic Approaches to the Genetics of Alcoholism. **Alcohol Research & Health**, v. 26, n° 3, p. 181-192, 2002.

ERAVCI, M., KLEY, S., PINNA, G., PRENGEL, H., BRÖDEL, O., HIEDRA, L., MEINHOLD, H., BAUMGARTNER, A. Gene expression glucose transporters and glycolytic enzymes in the CNS of rats behaviorally dependent on ethanol. **Molecular Brain Research**, v. 65, p. 103-111, 1999.

ERDEN, B.F., OZDEMIRCI, S., YILDIRAN, G., UTKAN, T., GACAR, N., ULAK, G. Dextromethorphan attenuates ethanol withdrawal syndrome in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 62, n° 3, p. 537-541, 1999.

FADDA, F., ROSSETTI, Z.L. Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. **Progress in Neurobiology**, v. 56, p. 385-431, 1998.

FAHLKE, C., HARD, E., ERIKSSON, C.J.P., ENGEL, J.A., HANSEN, S. Amphetamine-Induced Hyperactivity: Differences Between Rats With High or Low Preference for Alcohol. **Alcohol**, v. 12, n° 4, p. 363-367, 1995.

FINN, D.A., CRABBE, J.C. Exploring Alcohol Withdrawal Syndrome. **Alcohol Health & Research World**, v. 21, n° 2, p. 149-156, 1997.

FROELICH, J.C. Opioid Peptides. **Alcohol Health & Research World**, v. 21, n° 2, p. 132-136, 1997.

GONZALES, R.A., JAWORSKI, J.N. Alcohol and Glutamate. **Alcohol Health & Research World**, v. 21, n° 2, p. 120-127, 1997.

GRAHAME, N.J. Selected Lines and Inbred Strains. **Alcohol Research & Health**, v. 24, n° 3, p. 159-163, 2000.

GROBIN, A.C., PAPADEAS, S.T., MORROW, A.L. Regional variations in the effects of chronic ethanol administration on GABA_A receptor expression: potential mechanisms. **Neurochemistry International**, v. 37, p. 453-461, 2000.

HENNIGER, M.S.H., SPANAGEL, R., WIGGER, A., LANDGRAF, R., HÖLTER, S.M. Alcohol Self-administration in two rat lines selectively bred for extremes in anxiety-related behavior. **Neuropsychopharmacology**, v. 26, n° 6, p. 729-736, 2002.

HESELBROCK, M.N., HESSELBROCK, V.M., EPSTEIN, E.E. Theories of Etiology of Alcohol and Other Drug Use Disorders. **Addictions: a comprehensive guidebook**. Barbara S. McCrady & Elizabeth E. Epstein, ed.; Oxford University Press, New York, p. 50-72, 1999.

HEYMAN, G.M. An Economic Approach to Animal Models of Alcoholism. **Alcohol Research & Health**, v. 24, n° 2, p. 132-139, 2000.

HEYNE A., MAY, T., GOLL, P., WOLFFGRAMM, J. Persisting consequences of drug intake: towards a memory of addiction. **Journal of Neural Transmission**, v. 107, p. 613-638, 2000.

HEYNE, A., WOLFFGRAMM, J. The development of addiction to d-amphetamine in an animal model: same principles as for alcohol and opiate. **Psychopharmacology**, v. 140, p. 510-518, 1998.

HITZEMANN, R. Animal models of psychiatric disorders and their relevance to alcoholism. **Alcohol Research & Health**, v. 24, n° 3, p. 149-158, 2000.

HYMAN, S. E., MALENKA, R.C. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, p. 695-703, 2001.

ITZHAK, Y., MARTIN, J.L. Effects of cocaine, nicotine, dizocilpine and alcohol on mice locomotor activity: cocaine-alcohol cross-sensitization involves up regulation of striatal dopamine transporter binding sites. **Brain Research**, v. 818, p. 204-211, 1999.

KACZMAREK, H.J., KIEFER, S.W. Microinjections of dopaminergic agents in the nucleus accumbens affect ethanol consumption but not palatability. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 66, p. 307-312, 2000.

KAYIR, H., UZBAY I.T. Investigation of a possible sensitisation development to a challenge dose of ethanol after 2 weeks following the single injection in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 73, p. 551-556, 2002.

KOOB, G.F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. **TIPS**, v. 13, p. 177-184, 1992.

KOOB, G.F., KREEK, M.J. Drug dependence: stress and dysregulation of brain reward pathways. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 51, p. 23-47, 1998.

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.

KOOB, G.F. Animal models of craving for ethanol. **Addiction**, v. 95 (suppl.2), p. S73-S81, 2000.

LITTLETON, J. Receptor regulation as a unitary mechanism for drug tolerance and physical dependence - not quite as simple as it seemed! **Addiction**, v. 96, p. S87-S101, 2001.

LOVINGER, D.M. Serotonin's role in alcohol's effects on the brain. **Alcohol Health & Research World**, v. 21, nº 2, p. 114-120, 1997.

LYNCH, W.J., ROTH, M.E., CARROLL, M.E. Biological basis of sex differences in drug abuse: preclinical and clinical studies. **Psychopharmacology**, v. 164, p. 121-137, 2002.

MACRAE, E. Antropologia: Aspectos Sociais, Culturais e Ritualísticos. In: SEIBEL, S.D.; TOSCANO JR., A. (Ed.), **Dependência de Drogas**. São Paulo: Editora Atheneu, 1ª ed., cap. 3, p. 25-34, 2000.

MAGALHÃES, R.F. **Crítica da Razão Ébria: Reflexões sobre Drogas e a Ação Imoral**. In: Cañizal, E.P. e colaboradores (Ed.), São Paulo: Editora Annablume, 1ª ed., 1994.

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

McCLURE, S.M., DAW, N.D., MONTAGUE, P.R. A computational substrate for incentive salience. **Trends in Neurosciences**, v. 26, nº 8, p. 423-428, 2003.

MIHIC, S.J., HANS, A. GABA and the GABA_A receptor. **Alcohol Health & Research World**, v. 21, nº 2, p. 127-131, 1997.

PHILLIPS, T.J., ROBERTS, A.J., LESSOV, C.N. Behavioural Sensitization to ethanol: Genetics and effects of stress. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 57, nº 3, p. 487-493, 1997.

PHILLIPS, T. Animal Models for the genetic study of human alcohol phenotypes. **Alcohol Research & Health**, v. 26, nº 3, p. 202-207, 2002.

PIAZZA, P.V., DEMINIERE, J.M., LE MOAL, M., SIMON, H. Stress- and pharmacologically-induced behavioral sensitization increases vulnerability to acquisition of amphetamine self-administration. **Brain Research**, v. 514, p. 22-26, 1990.

PIGATTO, G. **Efeito da sensibilização prévia sobre o consumo de etanol em um modelo de auto-administração de etanol**. Curitiba, 2004. 114 f. Monografia (Mestrado em Farmacologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. Não publicado.

PONNAPPA, B.C., RUBIN, E. Modeling Alcohol's Effects on Organs in Animal Models. **Alcohol Research & Health**, v. 24, nº 2, p. 93-104, 2000.

QUADROS, I.M.R., 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. **European Journal of Pharmacology**, v. 442, p. 55-61, 2002.

RAJGOPAL, Y., VEMURI, M.C. Ethanol induced changes in cyclin-dependent kinase-5 activity and its activators, P35, P37 (Munc-18) in rat brain. **Neuroscience Letters**, v. 308, p. 173-176, 2001.

ROBBINS, T.W., EVERITT, B.J. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. **Cognitive Neuroscience**, v. 6, p. 228-236, 1996.

ROBERTS, A.J., KOOB, G.F. The neurobiology of Addiction. **Alcohol Health & Research World**, v. 2, p. 101-106, 1997.

ROBERTS, A.J., HEYSER, C.J., COLE, B.S.M., GRIFFIN, B.S.P. Excessive Ethanol Drinking Following a History of Dependence: Animal Model of Allostasis. **Europsychopharmacology**, v. 22, nº 6, p. 581-594, 2000.

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

ROBINSON, T.E., BERRIDGE, K.C. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. **Addiction**, v. 95 (suppl2), p. S91-S117, 2000.

ROBINSON, T.E., BERRIDGE, K.C. Mechanisms of action of addictive stimuli: Incentive-sensitization and addiction. **Addiction**, v. 96, p. 103-114, 2001.

ROBINSON, T.E., BERRIDGE, K.C. Addiction. **Annu Rev Psychol**, v. 54, p. 25-33, 2003.

SAMSON, H.H., HARRIS, A. Neurobiology of alcohol abuse. **TIPS**, v. 13, p. 206-211, 1992.

SETH, P., FILE, S.E. A review of 25 years of the social interaction test. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, p. 35-53, 2003.

SLUYTER, F., HOF, M., ELLENBROEK, B.A., DEGEN, S.B., COOLS, A.R. Genetic, sex, and early environmental effects on the voluntary alcohol intake in Wistar rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 67, p. 801-808, 2000.

SOUZA-FORMIGONI, M.L.O., DE LUCCA, E.M., HIPÓLIDE, D.C., ENSS, 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., MONTKOWSKI, A., ALLINHAM, K., STÖHR, T., SHOAB, M., HOLSBOER, F., LANDGRAF, R. Anxiety: a potential predictor of vulnerability to the

initiation of ethanol self-administration in rats. **Psychopharmacology**, v.122, p. 369-373, 1995.

SPANAGEL, R., HÖLTER, S.M. Long-term alcohol self-administration with repeated alcohol deprivation phases: an animal model of alcoholism? **Alcohol & Alcoholism**, v. 34, nº 2, p. 231-243, 1999.

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

SPANAGEL, R. Recent animal models of alcoholism. **Alcohol Research & Health**, v. 24, nº 2, p. 124-131, 2000.

SPANAGEL, R. Alcohol addiction research: from animal models to clinics. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, nº 4, p. 507-518, 2003.

STEWART, R.B., LI, T.K. The neurobiology of alcoholism in genetically selected rat models. **Alcohol Research & Health**, v. 21, nº 2, p. 169-176, 1997.

STOLERMAN, I. Drugs of abuse: behavioural principles, methods and terms. **TIPS**, v. 13, p. 170-176, 1992.

STOLERMAN, I.P., OLUFSEN, K. Generalisation of ethanol with drug mixtures containing a positive modulator of the GABA_A receptor and an NMDA antagonist. **Neuropharmacology**, v. 40, p. 123-130, 2001.

TABAKOFF, B., HOFFMAN, P. Animal Models in Alcohol Research. **Alcohol Research & Health**, v. 24, nº 2, p. 77-84, 2000.

TOSCANO JR., A. Um Breve Histórico Sobre o Uso de Drogas. In: SEIBEL, S.D.; TOSCANO JR., A. (Ed.), **Dependência de Drogas**. São Paulo: Editora Atheneu, 1ª ed., cap. 2, p. 7-23, 2000.

TRZCIŃSKA, M., BERGH, J., DELEON, K., STELLAR, J.R., MELLONI JR., R.H. Social stress does not alter the expression of sensitisation to cocaine. **Physiology & Behavior**, v. 76, p. 457-463, 2002.

U.S. Congress on Alcohol and Health, 10^o, 2000, United States. Special report to the U.S. Congress on Alcohol and Health. **United States: National Institutes of Health**.

VALENZUELA, C.F. Alcohol and Neurotransmitter Interactions. **Alcohol Health & Research World**, v. 21, n^o 2, p. 144-148, 1997.

VOGUEL-SPROTT, M. Is Behavioral Tolerance Learned? **Alcohol Health & Research World**, v. 21, n^o 2, p. 161-168, 1997.

WEISS, F. Neuroadaptive changes in neurotransmitter systems mediating ethanol-induced behaviors. **Review of NIAAA's Neuroscience and Behavioral Research Portfolio**, v. 34, p. 261-314, 2000.

WEISS, I.C., DOMENEY, A.M., HEIDBREder, C.A., MOREAU, J.L., FELDON, J. Early social isolation, but not maternal separation, affects behavioural sensitisation to amphetamine in male and female adult rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 70, p. 397-409, 2001.

WISE, R.A. Drug-activation of brain reward pathways. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 51, p. 13-22, 1998.

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

WOLFFGRAMM, J., GALLI, G., THIMM, F., HEYNE, A. Animal models of addiction: models for therapeutic strategies? **Journal of Neural Transmission**, v. 107, p. 649-668, 2000.

REFERÊNCIAS RECOMENDADAS

KOOB, G.F. Drug Reward and Addiction. In: ZIGMOND, M.J., BLOOM, F.E., LANDIS, S.C., ROBERTS, J.L., SQUIRE, L.R. (Ed.), **Fundamental Neuroscience**. Academic Press, 1ª ed., seção 4, cap. 49, p. 1261-1279, 1999.

LENDE, D.H., SMITH, E.O. Evolution meets biopsychosociality: an analysis of addictive behavior. **Addiction**, v. 97, p. 447-458. 2002.

O'BRIEN, C.P. Drug Addiction and Drug Abuse. In: GILMAN, A.G. **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**, Martin J. Wonsiewicz & Peter McCurdy (Ed.), York Graphic Services, Inc., eds., 9ª ed., seção 3, cap. 24, p. 557-577, 1996.

ROBBINS, T.W., EVERITT, B.J. Motivation and Reward. In: ZIGMOND, M.J., BLOOM, F.E., LANDIS, S.C., ROBERTS, J.L., SQUIRE, L.R. (Ed.), **Fundamental Neuroscience**. Academic Press, 1ª ed., seção 4, cap. 48, p. 1245-1260, 1999.

SULLIVAN, R.J., HAGEN, E.H. Psychotropic substance-seeking: evolutionary pathology or adaptation? **Addiction**, v. 97, p. 389-400, 2002.

VELHO, G. Dimensão cultural e política do mundo das drogas. **Projeto e Metamorfose: Antropologia das sociedades complexas**. Jorge Zahar (Ed.), Rio de Janeiro: Editor Rio de Janeiro, cap. VII, p. 84-89, 1994.

APÊNDICE 1 - AVALIAÇÃO DA AVERSIVIDADE AO SABOR DE QUININA

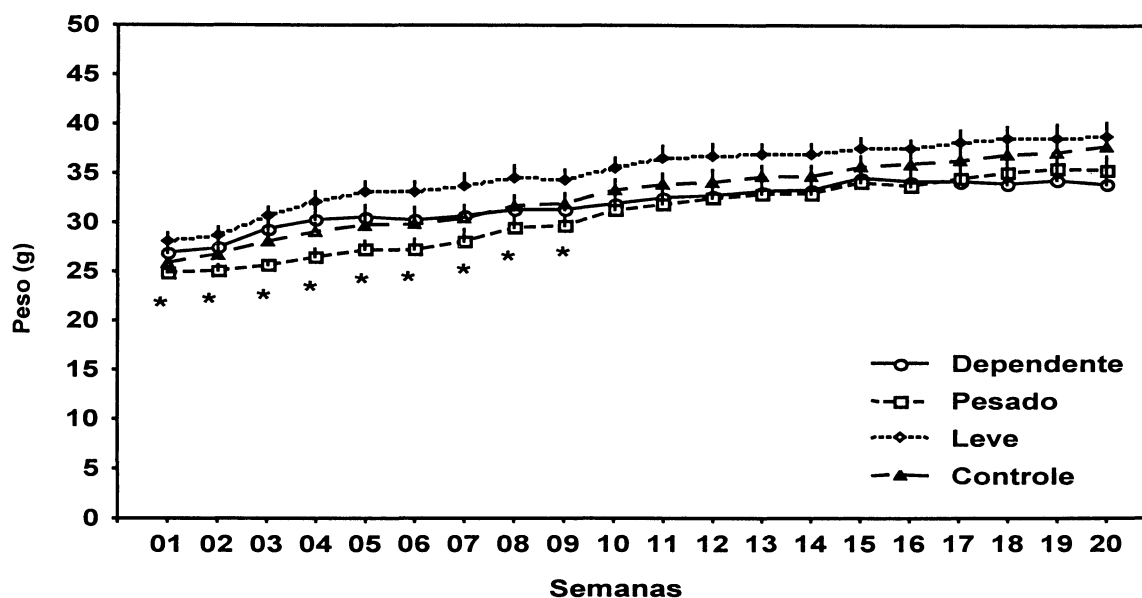
A média dos pesos dos animais nos dois grupos não diferiu entre si nas duas ocasiões em que foram medidas ($t_1= 0,09$ e $t_2= -0,43$, $p>0,05$; teste t independente). E, em ambos os grupos, os animais demonstraram aumento de peso significativo no transcorrer do experimento (Grupo 1: $t= -3,31$, $p<0,01$; Grupo 2: $t= -7,48$, $p<0,0001$; teste t dependente).

A exposição a essas concentrações de quinina não alterou a média da ingestão total de líquido dos animais, exceto na concentração de 0,05g/L ($t= -3,81$, $p<0,01$, teste t dependente) que elevou a média de consumo de líquidos quando comparado com o consumo de água durante o período de 'limpeza'. Foi observada que apenas nessa concentração (0,05g/L) não houve redução significativa da média do consumo de água do grupo enquanto o mesmo tinha acesso às soluções.

APÊNDICE 2 – ANÁLISE DOS PESOS POR GRUPO

O grupo P apresentou um peso significativamente menor do que o do grupo L nas primeiras nove semanas do experimento, sendo que na terceira semana também foi inferior a média do peso dos demais grupos ($F_{1^a}(3,30)= 3,02, p<0,05$; $F_{2^a}(3,30)= 4,15, p<0,01$; $F_{3^a}(3,30)= 7,75, p<0,001$; $F_{4^a}(3,30)= 7,61, p<0,001$; $F_{5^a}(3,30)= 6,79, p<0,001$; $F_{6^a}(3,30)= 5,00, p<0,001$; $F_{7^a}(3,30)= 3,69, p<0,05$; $F_{8^a}(3,30)= 3,39, p<0,05$; $F_{9^a}(3,30)= 2,97, p<0,05$). A média do peso dos animais do grupo D foi significativamente menor nas primeiras duas semanas do experimento em relação às semanas subseqüentes ($F_D(19,95)= 8,73, p<0,0001$). Para os grupos P, L e C houve um aumento progressivo do peso ao longo das semanas de tratamento ($F_P(19,190)= 39,89$; $F_L(19,114)= 47,18$; $F_C(19,171)= 45,31, p<0,0001$). Também foi observada uma interação entre o tratamento e grupo ($F(57,570)=1,55, p<0,01$), (gráfico 1).

GRÁFICO 1 - PESO POR GRUPO



NOTA: média \pm ep dos pesos corporais para cada semana de tratamento (abs: fase de abstinência; reap: fase de reapresentação; ad: fase de adulteração). *($p<0,05$, ANOVA seguido de Newman-Keuls).

APÊNDICE 3 – ANÁLISES COMPORTAMENTAIS I

TABELA 01 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (continua)

Variável	Grupos	Basal ^V	F ₁ (3,30)	Abstinência ^V	t ₁	F ₂ (3,30)	Teste Agudo ^V	t ₂	F ₃ (3,29)
LCE-EA	D	13 ± 1,2	1,06 p= 0,38	8 [#] ± 0,7	4,24 p= 0,008	0,16 p= 0,92	12 ± 1,9	0 p= 1,00	0,61 p= 0,61
	P	11 ± 1,0		9 ± 0,9	0,95 p= 0,36		10 ± 1,6	0,39 p= 0,70	
	L	9 ± 2,0		9 ± 0,8	0,53 p= 0,61		7 ± 3,4	0,49 p= 0,64	
	C	11 ± 0,9		8 ± 1,7	1,49 p= 0,17		9 ± 1,6	0,64 p= 0,54	
LCE-TA	D	115 ± 5,4	0,69 p= 0,55	95 ± 7,9	1,66 p= 0,16	1,06 p= 0,38	117 ± 15,2	-0,36 p= 0,74	0,69 p= 0,57
	P	121 ± 8,8		109 ± 7,6	1,06 p= 0,31		95 ± 10,8	1,94 p= 0,08	
	L	115 ± 9,0		107 ± 13,1	0,51 p= 0,62		107 ± 23,3	0,31 p= 0,76	
	C	107 ± 5,8		86 ± 13,9	1,79 p= 0,11		86 ± 12,8	1,71 p= 0,12	
LCE-EF	D	5 ± 0,6	1,53 p= 0,23	4 ± 0,6	1,40 p= 0,22	0,36 p= 0,78	9 ± 3,0	-1,19 p= 0,30	1,78 p= 0,17
	P	4 ± 0,7		4 ± 0,5	-0,25 p= 0,81		12 [#] ± 2,1	-3,84 p= 0,003	
	L	4 ± 0,6		5 ± 1,0	-0,69 p= 0,52		10 ± 3,9	-1,57 p= 0,17	
	C	5 ± 0,5		4 [#] ± 0,3	2,71 p= 0,02		5 ± 0,9	0,6 p= 0,57	
LCE-TF	D	37 ± 5,6	0,49 p= 0,70	51 ± 7,2	-1,63 p= 0,16	1,46 p= 0,24	46 ± 13,7	-0,25 p= 0,81	0,39 p= 0,76
	P	41 ± 8,9		46 ± 4,9	-0,49 p= 0,64		67 ± 10,0	-1,91 p= 0,09	
	L	43 ± 7,7		39 ± 8,3	0,30 p= 0,77		52 ± 20,8	-0,40 p= 0,70	
	C	50 ± 5,3		63 ± 11,6	-1,52 p= 0,16		60 ± 11,0	-0,87 p= 0,41	
LCE-TL	D	1 ± 0,4	1,74 p= 0,18	1 ± 0,4	-1,58 p= 0,17	0,51 p= 0,68	1 ± 0,6	-0,56 p= 0,61	2,45 p= 0,08
	P	1 ± 0,4		5 ± 2,7	-1,72 p= 0,12		0 [#]	2,52 p= 0,03	
	L	4 ± 1,9		5 ± 4,5	-0,30 p= 0,78		6 ± 2,6	-0,40 p= 0,55	
	C	3 ± 1,2		7 ± 2,8	-0,99 p= 0,35		5 ± 2,3	-0,8 p= 0,44	
LCE-TM	D	27 ± 3,6	3,56 p= 0,03	32 ± 9,5	-0,42 p= 0,69	0,99 p= 0,41	16 ± 3,1	1,78 p= 0,15	3,26 p= 0,04
	P	17 ± 2,1		20 ± 3,6	-0,90 p= 0,39		18 ± 1,8	-0,50 p= 0,63	
	L	18 ± 2,4		28 ± 4,8	-2,20 p= 0,07		14 ± 3,8	0,62 p= 0,56	
	C	20 ± 1,3		24 ± 4,3	-1,04 p= 0,32		29 ± 5,0	-1,92 p= 0,09	

NOTA: ^Vmédia ± ep das variáveis comportamentais medidas durante o teste basal (**Basal**), período de abstinência (**Abstinência**) e após dose aguda de etanol (**Teste Agudo**): (**LCE**: labirinto em cruz elevado; **EL**: número de elevações; **TL**: tempo de latência; **EA**: número de entrada no braço aberto; **TA**: tempo de permanência no braço aberto; **EF**: número de entrada no braço fechado; **TF**: tempo de permanência no braço fechado; **TM**: tempo no meio; **f**: braço fechado). **t₁**: comparação entre o teste basal e abstinência; **t₂**: comparação entre o teste basal e teste agudo com etanol; **F₁**: comparação entre os grupos durante o teste basal; **F₂**: comparação entre os grupos durante o período de abstinência; **F₃**: comparação entre os grupos durante o teste agudo com etanol. [#]diferença no mesmo grupo (p<0,05, teste t dependente) diferença entre os grupos (p<0,05, ANOVA, Newmann-Keuls)

TABELA 01 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

Variável	Grupos	Basal ^V	F ₁ (3,30)	Abstinência ^V	t ₁	F ₂ (3,30)	Teste Agudo ^V	t ₂	F ₃ (3,29)
LCE- EL _f	D	-		3 ± 1,0	-	0,25 p= 0,86	-	-	-
	P	-		4 ± 0,9	-		-	-	
	L	-	-	5 ± 1,9	-		-	-	
	C	-		5 ± 1,3	-		-	-	

NOTA: ^Vmédia ± ep das variáveis comportamentais medidas durante o teste basal (**Basal**), período de abstinência (**Abstinência**) e após dose aguda de etanol (**Teste Agudo**): (**LCE**: labirinto em cruz elevado; **EL**: número de elevações; **TL**: tempo de latência; **EA**: número de entrada no braço aberto; **TA**: tempo de permanência no braço aberto; **EF**: número de entrada no braço fechado; **TF**: tempo de permanência no braço fechado; **TM**: tempo no meio; **f**: braço fechado). **t₁**: comparação entre o teste basal e abstinência; **t₂**: comparação entre o teste basal e teste agudo com etanol; **F₁**: comparação entre os grupos durante o teste basal; **F₂**: comparação entre os grupos durante o período de abstinência; **F₃**: comparação entre os grupos durante o teste agudo com etanol. *diferença no mesmo grupo (p<0,05, teste t dependente) diferença entre os grupos (p<0,05, ANOVA, Newmann-Keuls)

TABELA 02 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS NÃO PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

Variável	Grupos	Basal ^N	H ₁ (3,34)	Abstinência ^N	Z ₁	H ₂ (3,34)	Teste Agudo ^N	Z ₂	H ₃ (3,33)
LCE- ES	D	-		2 ± 1,0	-		-	-	
	P	-		3 ± 17,0	-	4,71	-	-	
	L	-	-	1 ± 2,0	-	p= 0,19	-	-	-
	C	-		3 ± 8,0	-		-	-	
LCE- PE _a	D	-		0* ± 1,0	-		-	-	
	P	-		0 ± 2,0	-	11,31	-	-	
	L	-	-	1 ± 3,0	-	p= 0,01	-	-	-
	C	-		2 ± 0	-		-	-	
LCE- AL _f	D	-		0 ± 0	-		-	-	
	P	-		0 ± 0	-	1,55	-	-	
	L	-	-	0 ± 0	-	p= 0,67	-	-	-
	C	-		0 ± 0	-		-	-	
LCE- PE _f	D	-		1 ± 2,0	-		-	-	
	P	-		0 ± 1	-	4,10	-	-	
	L	-	-	0 ± 1	-	p= 0,25	-	-	-
	C	-		0 ± 0	-		-	-	
LCE-DEF	D	0		-	-		0 ± 0	-	
	P	0	6,27	-	-		0 ± 1	0,31 p= 0,70	1,47
	L	1 ± 2	p= 0,10	-	-	-	0 ± 1	0,84 p= 0,40	p= 0,69
	C	0		-	-		0 ± 0	0,13 p= 0,89	

NOTA: ^Nmediana ± quartil das variáveis comportamentais medidas durante o teste basal (**Basal**), período de abstinência (**Abstinência**) e após dose aguda de etanol (**Teste Agudo**): (**LCE**: labirinto em cruz elevado; **EL**: número de elevações; **AL**: tempo de autolimpeza; **ES**: número de espreitas; **a**: braço aberto; **f**: braço fechado; **PE**: posição esticada). **Z₁**: comparação entre o teste basal e abstinência; **Z₂**: comparação entre o teste basal e teste agudo com etanol; **H₁**: comparação entre os grupos durante o teste basal; **H₂**: comparação entre os grupos durante o período de abstinência; **H₃**: comparação entre os grupos durante o teste agudo com etanol. #diferença no mesmo grupo (p<0,05, teste Wilcoxon) *diferença entre os grupos (p<0,05, teste de Kruskal-Wallis)

TABELA 03 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO CAMPO ABERTO

Variável	Grupos	Basal ^V	F ₁ (3,30)	Abstinência ^V	T ₁	F ₂ (3,30)	Teste Agudo ^V	t ₂	F ₃ (3,29)
CA-AMB	D	90 ± 6,6	0,95 p= 0,43	57 [#] ± 8,2	5,27 p= 0,003	1,17 p= 0,34	90 ± 21,0	-0,21 p= 0,85	5,41 p= 0,01
	P	77 ± 6,0		67 ± 7,2	1,91 p= 0,08		126 ^{**} ± 13,8	-4,3 p= 0,002	
	L	75 ± 7,7		82 ± 12,6	-0,50 p= 0,63		106 ± 16,6	-1,75 p= 0,13	
	C	76 ± 5,2		63 ± 7,1	1,47 p= 0,18		58 ± 6,9	1,86 p= 0,10	
CA-EL	D	17 ± 5,0	0,21 p= 0,89	5 [#] ± 3,1	5,04 p= 0,004	2,68 p= 0,06	0 [#]	3,72 p= 0,02	1,94 p= 0,14
	P	21 ± 4,7		13 ± 3,2	2,15 p= 0,06		7 [#] ± 2,6	3,08 p= 0,01	
	L	23 ± 4,0		19 ± 4,8	0,63 p= 0,55		2 [#] ± 1,3	5,25 p= 0,002	
	C	20 ± 3,8		11 [#] ± 2,0	2,72 p= 0,02		7 [#] ± 2,2	3,90 p= 0,003	
CA-TPT	D	-	-	-	-	-	0	-	0,64 p= 0,59
	P	-		-	-		2 ± 0,6	-	
	L	-		-	-		0	-	
	C	-		-	-		0	-	

NOTA: ^Vmédia ± ep das variáveis comportamentais medidas durante o teste basal (**Basal**), período de abstinência (**Abstinência**) e após dose aguda de etanol (**Teste Agudo**): (**CA**: campo aberto; **AMB**: número de ambulância; **EL**: número de elevações; **TPT**: tempo parado total). t₁: comparação entre o teste basal e abstinência; t₂: comparação entre o teste basal e teste agudo com etanol; F₁: comparação entre os grupos durante o teste basal; F₂: comparação entre os grupos durante o período de abstinência; F₃: comparação entre os grupos durante o teste agudo com etanol. #diferença no mesmo grupo (p<0,05, teste t dependente) diferença entre os grupos (p<0,05, ANOVA, Newman-Keuls)

TABELA 04 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS NÃO PARAMÉTRICAS MEDIDAS NO CAMPO ABERTO

Variável	Grupos	Basal ^N	H ₁ (3,34)	Abstinência ^N	Z ₁	H ₂ (3,34)	Teste Agudo ^N	Z ₂	H ₃ (3,33)
CA-DEF	D	1 ± 2,0	4,28 p= 0,23	-	-	-	0 ± 2,0	0,53 p= 0,59	0,41 p= 0,94
	P	0 ± 1,0		-	-		0 ± 2,0	1,18 p= 0,24	
	L	1 ± 2,0		-	-		0 ± 1,0	0,94 p= 0,34	
	C	1 ± 2,0		-	-		0 ± 2	0,98 p= 0,33	
CA-AL	D	0 ± 0	0,98 p= 0,80	3 ± 6,0	1,60 p= 0,11	1,04 p= 0,39	0 ± 9,0	1,07 p= 0,28	1,49 p= 0,68
	P	0 ± 0		0 ± 5,0	1,15 p= 0,25		0 ± 10,0	1,83 p= 0,07	
	L	0 ± 2,0		0 ± 3,0	0,40 p= 0,69		0 ± 0	-	
	C	0 ± 0		4 ± 6,0	1,35 p= 0,18		0 ± 5,0	1,46 p= 0,14	
CA-TL	D	4 ± 2,0	5,27 p= 0,15	6 ± 48	1,35 p= 0,18	0,23 p= 0,97	2,0 ± 2,0	0,13 p= 0,89	1,34 p= 0,72
	P	3 ± 2,0		10 ± 12	1,33 p= 0,18		2,0 ± 5,0	0,06 p= 0,95	
	L	3 ± 7,0		5 ± 5	1,01 p= 0,31		2,0 ± 8,0	0 p= 0,10	
	C	6 ± 7,0		5 ± 12	0,77 p= 0,44		3,0 ± 1,0	1,89 p= 0,06	
CA- PE _c	D	-	-	0 ± 4,0	-	1,63 p= 0,65	-	-	-
	P	-		3 ± 3,0	-		-	-	
	L	-		1 ± 2,0	-		-	-	
	C	-		1 ± 4,0	-		-	-	
CA- PE _p	D	-	-	0 ± 0	-	7,01 p= 0,07	-	-	-
	P	-		1 ± 3,0	-		-	-	
	L	-		0 ± 1,0	-		-	-	
	C	-		0 ± 1,0	-		-	-	

NOTA: ^Nmediana ± quartil das variáveis comportamentais medidas durante o teste basal (**Basal**), período de abstinência (**Abstinência**) e após dose aguda de etanol (**Teste Agudo**): (**CA**: campo aberto; **AL**: tempo de autolimpeza; **TL**: tempo de latência; **ES**: número de espreitas; **PE**: posição esticada; **c**: centro; **p**: periferia). **Z₁**: comparação entre o teste basal e abstinência; **Z₂**: comparação entre o teste basal e teste agudo com etanol; **H₁**: comparação entre os grupos durante o teste basal; **H₂**: comparação entre os grupos durante o período de abstinência; **H₃**: comparação entre os grupos durante o teste agudo com etanol. #diferença no mesmo grupo (p<0,05, teste Wilcoxon) *diferença entre os grupos (p<0,05, teste Kruskal-Wallis)

TABELA 05 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS PARAMÉTRICAS MEDIDAS NA CAIXA DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA

Variável	Grupos	Basal ^v	F ₁ (3,30)	Abstinência ^v	t ₁	F ₂ (3,30)	Teste Agudo ^v	t ₂	F ₃ (3,29)
CME-AMB	D	32 ± 5,0	1,95 p= 0,14	33 ± 4,1	-0,05 p= 0,96	1,18 p= 0,33	49 ± 15,0	-0,87 p= 0,43	3,45 p= 0,03
	P	31 ± 2,5		30 ± 2,9	-0,30 p= 0,77		61 [#] ± 6,2	-4,02 p= 0,002	
	L	40 ± 3,9		38 ± 2,9	0,43 p= 0,69		55 ± 12,8	-1,29 p= 0,25	
	C	37 ± 1,7		35 ± 2,7	1,09 p= 0,30		29 [#] ± 2,5	3,52 p= 0,006	
CME-EL	D	14 ± 2,7	0,72 p= 0,55	3 ± 1,2	2,07 p= 0,09	0,79 p= 0,51	4 [#] ± 2,7	3,22 p= 0,03	1,65 p= 0,20
	P	16 ± 2,2		12 [#] ± 2,7	2,96 p= 0,01		9 [#] ± 2,6	2,56 p= 0,03	
	L	16 ± 3,2		10 ± 3,1	2,39 p= 0,05		3 [#] ± 1,8	4,35 p= 0,005	
	C	20 ± 2,9		12 ± 1,6	2,00 p= 0,08		7 [#] ± 1,5	3,71 p= 0,005	
CME-TPT	D	-	-	-	-	-	0	-	0,44 p= 0,73
	P	-		-	-		1 ± 0,9	-	
	L	-		-	-		0	-	
	C	-		-	-		0	-	

NOTA: ^vmédia ± ep das variáveis comportamentais medidas durante o teste basal (**Basal**), período de abstinência (**Abstinência**) e após dose aguda de etanol (**Teste Agudo**): (**CME**: caixa de movimentação espontânea; **AMB**: número de ambulacão; **EL**: número de elevações; **TPT**: tempo parado total). **t₁**: comparação entre o teste basal e abstinência; **t₂**: comparação entre o teste basal e teste agudo com etanol; **F₁**: comparação entre os grupos durante o teste basal; **F₂**: comparação entre os grupos durante o período de abstinência; **F₃**: comparação entre os grupos durante o teste agudo com etanol. [#]diferença no mesmo grupo (p<0,05, teste t dependente) diferença entre os grupos (p<0,05, ANOVA, Newman-Keuls)

TABELA 06 – COMPARAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS COMPORTAMENTAIS NÃO PARAMÉTRICAS MEDIDAS NA CAIXA DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA

Variável	Grupos	Basal ^N	H ₁ (3,34)	Abstinência ^N	Z ₁	H ₂ (3,34)	Teste Agudo ^N	Z ₂	H ₃ (3,33)
CME-AL	D	12 ± 9,0	3,28 p= 0,35	4 ± 5,0	1,99 p= 0,05	0,74 p= 0,86	11 ± 14	0,40 p= 0,69	1,58 p= 0,66
	P	14 ± 5,0		4 [#] ± 5,0	2,80 p= 0,005		0 ± 8,0	1,96 p= 0,05	
	L	9 ± 10,0		3 ± 5,0	1,89 p= 0,06		0 ± 10,0	1,99 p= 0,05	
	C	10 ± 8,0		3 [#] ± 6,0	2,29 p= 0,02		2 [#] ± 5,0	2,45 p= 0,01	
CME-DEF	D	1 ± 3,0	0,15 p= 0,98	-	-	-	1 ± 2,0	0,81 p= 0,42	1,04 p= 0,79
	P	0 ± 3,0		-	-		1 ± 2,0	0,07 p= 0,94	
	L	1 ± 2,0		-	-		1 ± 1,0	0,27 p= 0,79	
	C	0 ± 2,0		-	-		0 ± 2,0	0,34 p= 0,73	

NOTA: ^Nmediana ± quartil das variáveis comportamentais medidas durante o teste basal (**Basal**), período de abstinência (**Abstinência**) e após dose aguda de etanol (**Teste Agudo**): (**CME**: caixa de movimentação espontânea; **AL**: tempo de autolimpeza). **Z₁**: comparação entre o teste basal e abstinência; **Z₂**: comparação entre o teste basal e teste agudo com etanol; **H₁**: comparação entre os grupos durante o teste basal; **H₂**: comparação entre os grupos durante o período de abstinência; **H₃**: comparação entre os grupos durante o teste agudo com etanol. [#]diferença no mesmo grupo (p<0,05, teste de Wilcoxon) diferença entre os grupos (p<0,05, teste de Kruskal-Wallis)

APÊNDICE 4 – ANÁLISES COMPORTAMENTAIS II

Atividade locomotora e exploratória

No campo aberto o grupo P apresentou um aumento significativo na ambulação durante o teste com dose desafio de etanol comparando-se com os testes anteriores ($F_P(2,20)= 20,39$, $p<0,0001$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls), (figura 1A). O Grupo D mostrou uma redução na ambulação durante a abstinência comparando-se com os demais testes ($F_D(2,8)= 3,31$, $p=0,09$, ANOVA com repetições). Todos os grupos revelaram uma redução significativa no número de elevações ao longo dos testes comportamentais ($F_D(2,8)= 12,96$; $F_P(2,20)= 6,16$; $F_L(2,12)= 9,96$; $F_C(2,18)= 8,44$, $p<0,01$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls), (figura 1B).

Na caixa de movimentação espontânea o grupo P apresentou um aumento significativo na ambulação obtida no teste com dose desafio aguda de etanol comparando-se com os testes anteriores, já o grupo controle mostrou uma redução significativa em sua ambulação durante esse mesmo teste comparando-se com os demais testes ($F_P(2,20)= 13,28$; $F_C(2,18)= 7,29$, $p<0,01$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls), (figura 2A). Em relação ao número de elevações foi observado o mesmo perfil do encontrado no teste no campo aberto ($F_D(2,8)= 4,91$; $F_P(2,20)= 3,84$; $F_L(2,12)= 8,47$; $F_C(2,18)= 8,14$, $p<0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls), (figura 2B). Os grupos P e C reduziram significativamente seu tempo de autolimpeza durante o teste com dose desafio aguda de etanol em relação aos testes anteriores ($\chi^2_P(11,2)= 10,33$; $\chi^2_C(10,2)= 10,32$, $p<0,01$, Friedman ANOVA).

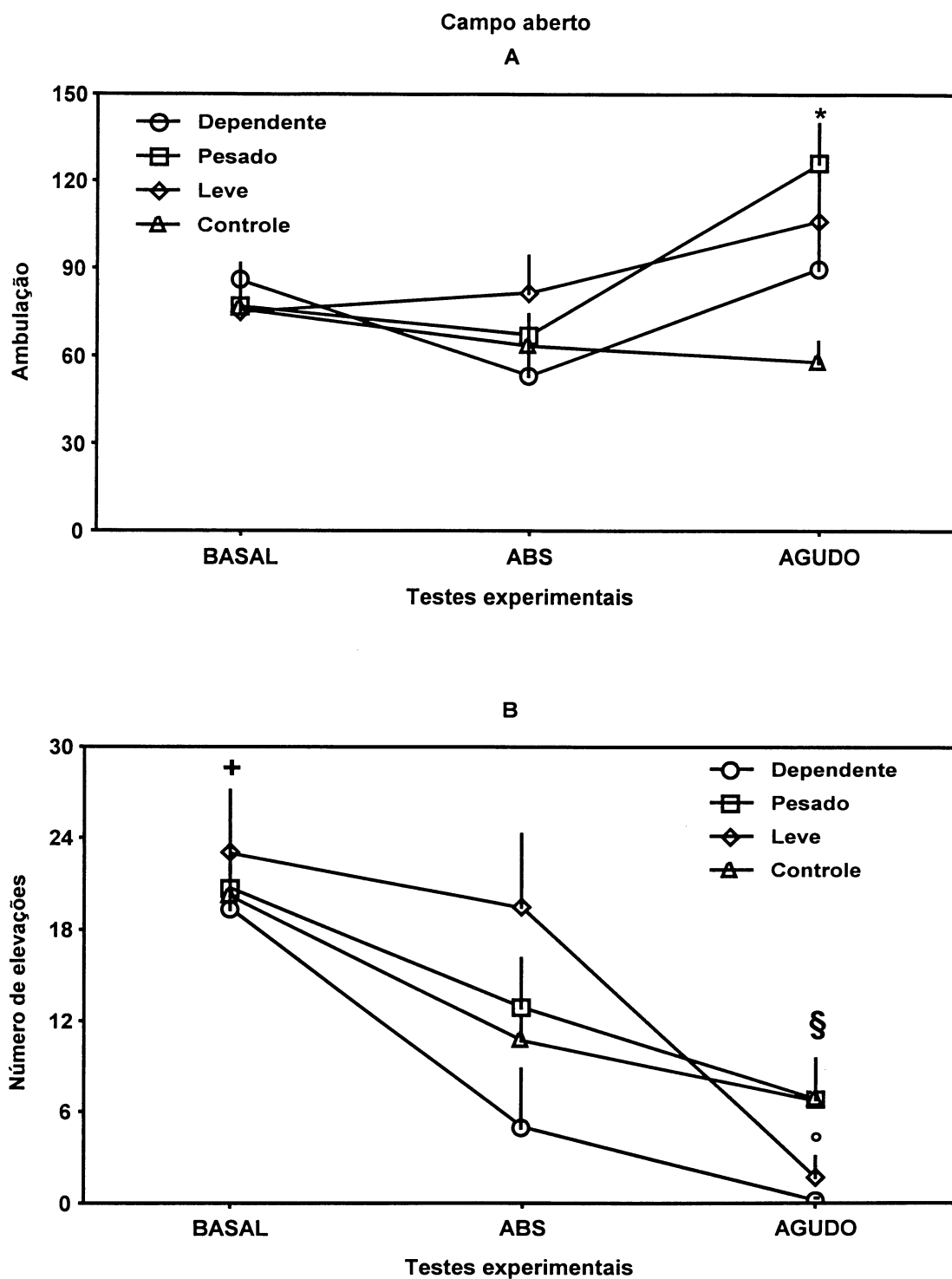


FIGURA 1 – ATIVIDADE LOCOMOTORA E EXPLORATÓRIA NO CAMPO ABERTO: média \pm erro padrão da ambulação (A) e número de elevações (B) para os grupos durante o teste basal (BASAL), na abstinência (ABS) e após administração de dose desafio aguda de etanol (AGUDO). * diferença no grupo P em relação aos testes anteriores ($p < 0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). ⁺ diferença no grupo C e D em relação aos demais testes ($p < 0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). [°] diferença no grupo L em relação aos demais testes ($p < 0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). § diferença no grupo P em relação ao teste basal ($p < 0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls).

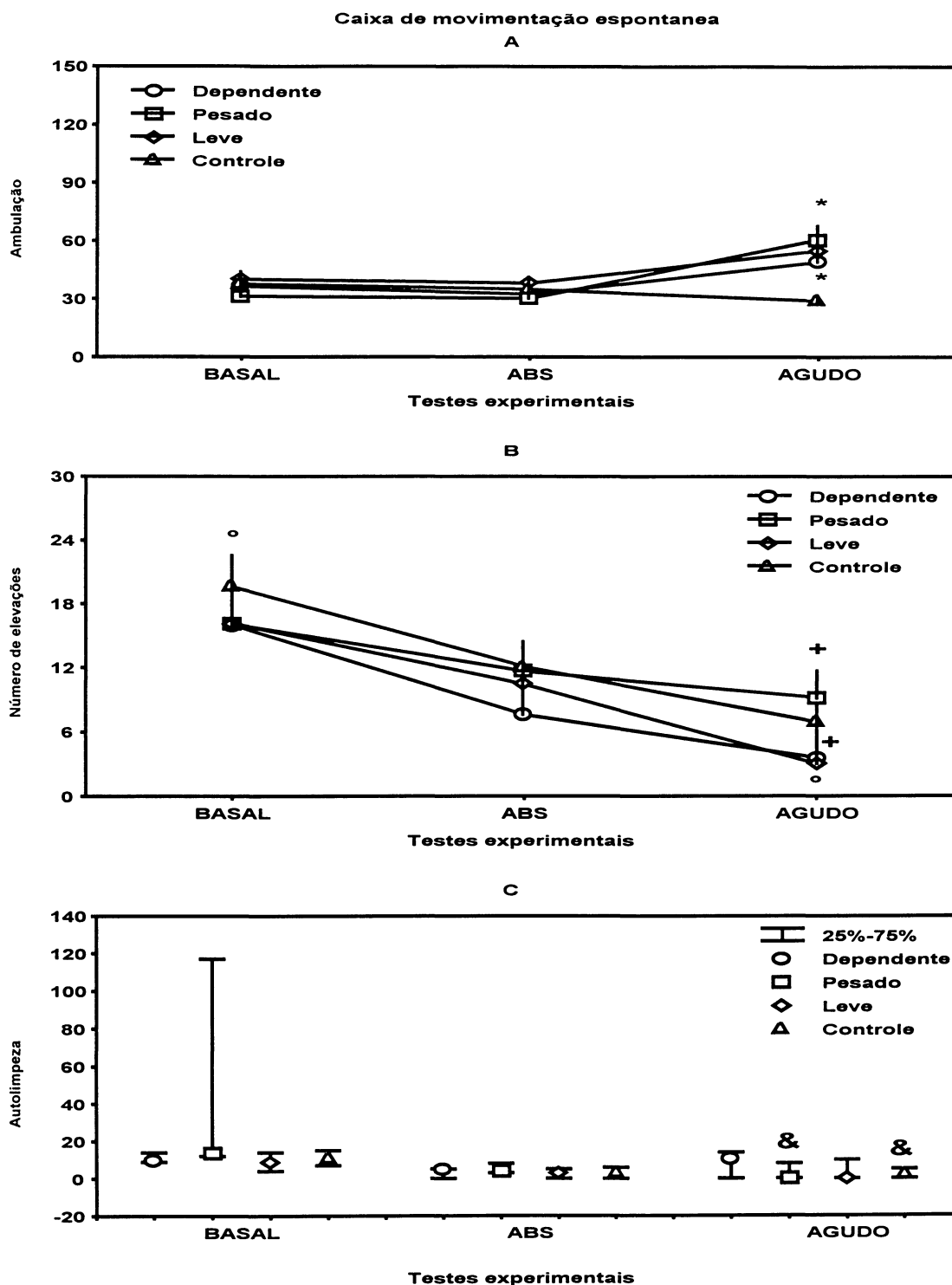


FIGURA 2 – ATIVIDADE LOCOMOTORA E EXPLORATÓRIA NA CAIXA DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA: média \pm erro padrão da ambulação (A) e número de elevações (B), mediana \pm quartil do tempo de autolimpeza (C) para os grupos durante o teste basal (BASAL), na abstinência (ABS) e após administração de dose desafio aguda de etanol (AGUDO). * diferença no grupo P e C em relação aos testes anteriores ($p < 0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). ° diferença no grupo L e C em relação aos demais testes ($p < 0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). & diferença no grupo P e C em relação aos testes anteriores ($p < 0,05$, Friedman ANOVA)

O grupo D apresentou uma redução significativa no número de entradas no braço aberto do labirinto em cruz elevado durante a abstinência comparando-se com o teste basal (para comparações *post hoc* entre os testes na abstinência e após dose desafio de etanol $p=0,07$), (figura 3A). O grupo P apresentou um aumento significativo no número de entradas no braço fechado durante o teste com dose desafio de etanol em relação aos testes anteriores ($F_D(2,8)=4,45$, $p<0,05$; $F_P(2,20)=14,62$, $p<0,0001$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls), (figura 3B).

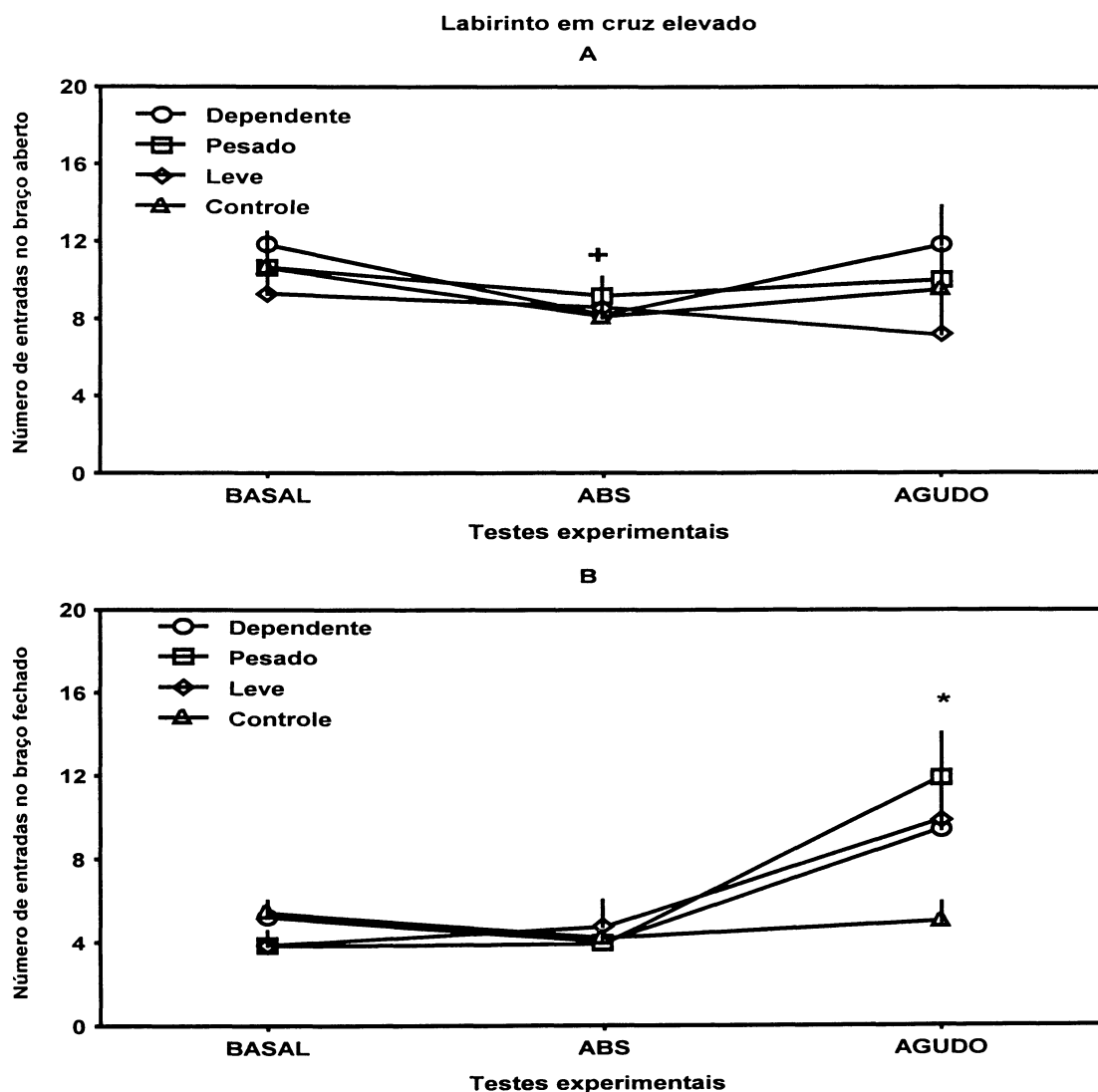


FIGURA 3 - ATIVIDADE LOCOMOTORA E EXPLORATÓRIA NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO: média \pm erro padrão do número de entradas no braço aberto (A) e braço fechado (B) para cada grupo durante o teste basal (BASAL), na abstinência (ABS) e após administração de dose desafio aguda de etanol (AGUDO). * diferença no grupo P em relação aos testes anteriores ($p<0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). + diferença no grupo D em relação ao teste basal ($p<0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls).

Reação ao medo

O grupo P apresentou um aumento significativo no tempo de latência no labirinto em cruz elevado durante a abstinência em relação ao teste basal ($F_P(2,20)= 3,51$, $p<0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls; para comparações *post hoc* entre os testes na abstinência e após dose desafio de etanol $p= 0,06$), (figura 4C). Esse grupo também aumentou seu tempo no braço fechado do labirinto em cruz elevado durante o teste com dose desafio de etanol ($F_P(2,20)= 2,82$, $p=0,08$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls). Durante a abstinência o grupo L mostrou um aumento significativo no tempo no meio do labirinto em cruz elevado comparando-se com o obtido nos teste com dose desafio de etanol ($F_L(2,12)= 4,31$, $p<0,05$, ANOVA com repetições seguido de Newman-Keuls; para comparações *post hoc* entre os testes na abstinência e teste basal $p= 0,06$), (figura 4D).

Para as comparações entre as variáveis medidas no campo aberto não foram encontradas diferenças significativas após análises com Friedman ANOVA e (figura 5A e 5B).

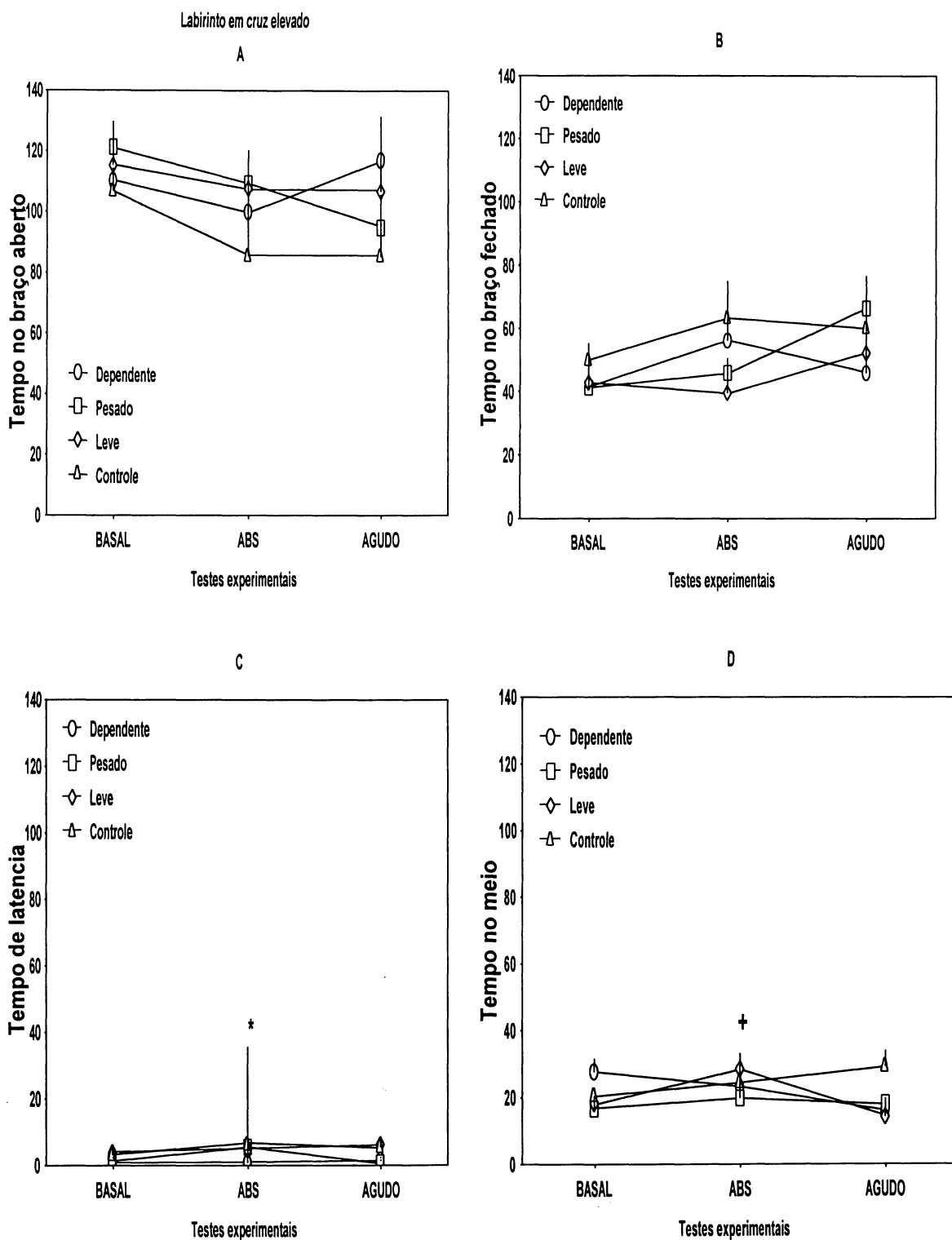


FIGURA 4 – REAÇÃO DE MEDO NO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO: média \pm erro padrão do tempo de permanência no braço aberto (A), no braço fechado (B), de latência (C) e no meio do aparelho (D) para os grupos testados sem droga durante o teste basal (BASAL) e abstinência (ABS) e após administração de dose desafio aguda de etanol (AGUDO). * diferença no grupo P em relação ao teste basal ($p < 0,05$, ANOVA com repetição seguido de Newman-Keuls). + diferença no grupo L em relação ao teste com dose desafio de etanol ($p < 0,05$, ANOVA com repetição seguido de Newman-Keuls).

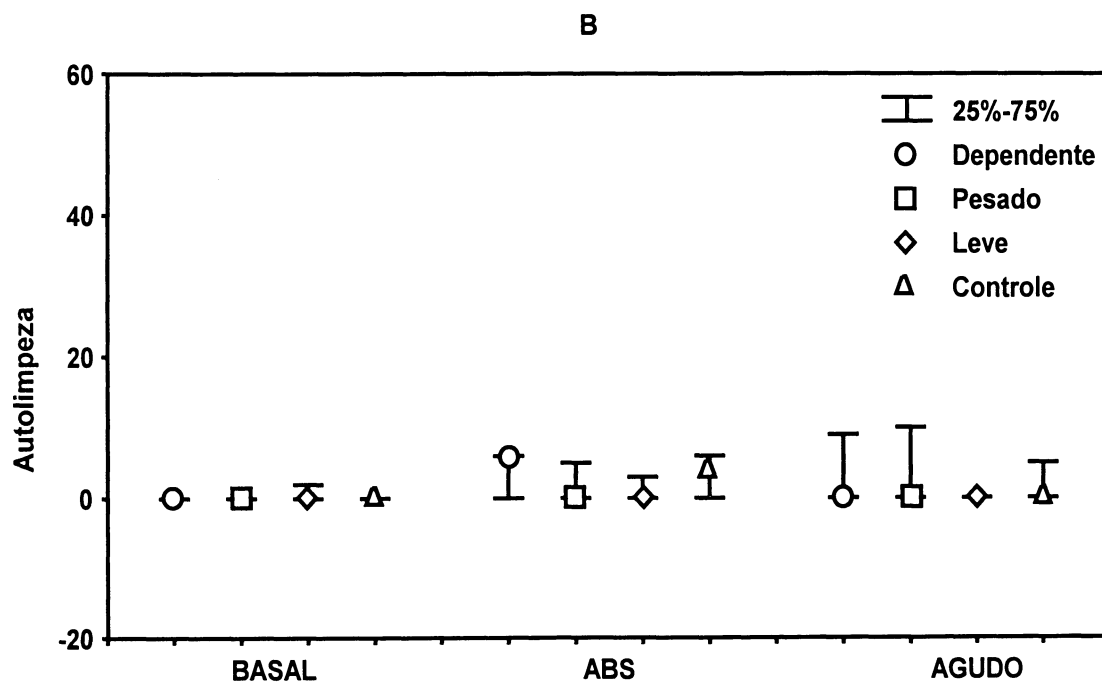
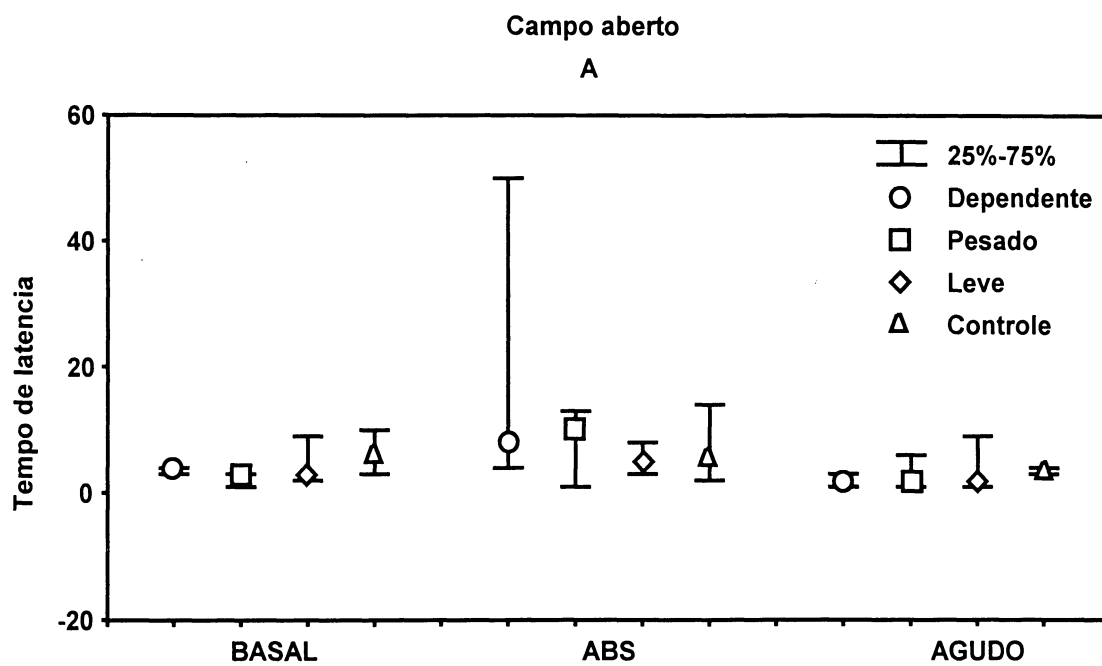


FIGURA 5 – REAÇÃO DE MEDO NO CAMPO ABERTO: mediana \pm quartil do tempo de latência (A) e de autolimpeza (B) para os grupos durante o teste basal (BASAL), abstinência (ABS) e após administração de dose desafiadora aguda de etanol (AGUDO).