

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**EFEITO DO ESTRESSE DE PRIVAÇÃO SOCIAL DURANTE A  
ADOLESCÊNCIA SOBRE O COMPORTAMENTO DE AUTOADMINISTRAÇÃO  
DE ETANOL EM RATOS.**

AUTORA: CINDY CHRISTINE F. S. NISHIHARA

Araraquara – SP

2013

AUTORA: CINDY CHRISTINE F. S. NISHIHARA

**EFEITO DO ESTRESSE DE PRIVAÇÃO SOCIAL DURANTE A ADOLESCÊNCIA  
SOBRE O COMPORTAMENTO DE AUTOADMINISTRAÇÃO DE ETANOL EM  
RATOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em  
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara,  
da Universidade Estadual Paulista para obtenção do grau de  
Farmacêutica-Bioquímica

Orientador: Profa. Dra. Cleopatra da Silva Planeta

Co-orientador: Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira

Araraquara – SP

2013

## **AGRADECIMENTOS**

A meus pais Katia Zuleika F. S. Nishihara e Paulo Nishihara, todo meu amor, carinho e admiração a vocês que estiveram comigo desde meus primeiros passos, foram minha base, meu porto seguro e que me apoiaram em todos os momentos de minha vida até hoje. Com isso, esta conquista não é somente minha, mas também de vocês, que de longe torceram por mim e sempre me ampararam, com o coração apertado de saudades e um sorriso no rosto. Obrigada por tudo. Jamais teria chegado até aqui sem o apoio de vocês!

Agradeço à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cleopatra da Silva Planeta, minha orientadora, por sua confiança, pelo seu incentivo, por sua orientação, por sua paciência e por sua amizade. Tenho uma grande admiração pela pessoa e profissional competente e dedicada que é. Sinto-me privilegiada por ter tido você como orientadora e nunca me esquecerei de todo o seu apoio e aprendizado. Obrigada!

Ao Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira, meu co-orientador, cujo auxílio e apoio foram essenciais para a realização deste trabalho.

A meus irmãos David e Denis, que com amor fraterno, sempre estiveram ao meu lado, me apoiaram e me incentivaram, mesmo de longe. Obrigada por tudo o que vocês fizeram e fazem por mim!

Aos meus amigos, que durante todos esses anos estiveram ao meu lado, que foram minha família durante a graduação e sem eles esta experiência não teria sido tão especial quanto foi: Arthur Zanetti, Bárbara Kapp, Heloisa Barbosa, Isabella Santos, Ivy Ishino, Renata Afonso e Renata Yuri. Obrigada pela amizade e pelo companheirismo!

Aos amigos do laboratório Lúgia, Paula, Paulo, Rodrigo, Sheila e todos os outros, pelo constante auxílio e apoio, essenciais para a realização desta monografia.

As Sras. Elisabete Z. P. Lepera e Rosana F. P. Silva, pela amizade e pelo auxílio, que foi essencial para o desenvolvimento desta monografia.

A Tirene, pela ajuda e pela amizade.

Ao Alexandre Donizeti Pazoti, da graduação da faculdade, pelo auxílio durante todos esses anos.

Aos Professores Ana Dóris de Castro, Hérica Regina Nunes Salgado, João Aristeu da Rosa, Mara Cristina Pinto, Márcia da Silva e Rosângela Gonçalves Peccinini pelo estímulo, apoio, conselhos e amizade sempre presentes.

A todos os colegas de turma e da faculdade, que fizeram parte da minha vida nestes últimos 5 anos e, que, de alguma maneira, participaram e auxiliaram em meu crescimento pessoal e profissional.

Aos grupos Jornada Farmacêutica e PAFE, pela formação extracurricular durante a graduação, que foi essencial para meu desenvolvimento profissional e, principalmente, pessoal e humano.

A FAPESP, pelo apoio financeiro.

Ao laboratório de farmacologia, pela estrutura para o desenvolvimento desta monografia.

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP de Araraquara.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	8
2. OBJETIVOS .....	12
3. METODOLOGIA.....	12
3.1. Animais .....	12
3.2. Soluções de etanol e de sacarina .....	13
3.3. Estresse na adolescência .....	13
3.4. Autoadministração operante de etanol ou sacarina .....	13
4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	15
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
6. RESULTADOS.....	16
6.1. Avaliação das Variáveis da Razão Progressiva na Autoadministração .	16
6.2. Avaliação do consumo prolongado (Binge).....	18
7. DISCUSSÃO .....	21
8. CONCLUSÕES .....	24
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24

## RESUMO

A dependência às drogas é conceituada como uma síndrome comportamental na qual o uso da droga adquire prioridade na vida do indivíduo. Dentre as substâncias de abuso que causam dependência, atualmente, o etanol é considerado droga lícita em vários países, e é, também, uma das drogas de abuso mais utilizada no mundo. No Brasil, o consumo de bebidas alcoólicas ocorre precocemente, geralmente aos 12 anos, e, conforme pesquisas, cerca de 31,2% de estudantes, já fizeram o uso do etanol nesta idade. Os adolescentes, assim como adultos, têm se mostrado susceptíveis ao efeito do estresse na vulnerabilidade ao abuso e dependência de substâncias. Pesquisas em humanos indicam que a exposição ao estresse na adolescência pode aumentar o consumo das substâncias de abuso, como o etanol. Investigamos se a exposição ao estresse de privação social, durante a adolescência, aumenta o consumo e a busca de etanol em etapas posteriores do desenvolvimento. Para isso, ratos adolescentes foram privados de contato social por 16 dias. Durante esse período os animais do grupo controle permaneceram nas gaiolas-moradias em grupos de 2 animais livres de perturbação. Após a fase de estresse, os animais foram submetidos ao protocolo de autoadministração operante, para avaliação dos parâmetros de consumo de etanol. Este estudo demonstrou que os animais expostos ao estresse de isolamento social, durante a adolescência, não apresentaram alteração na motivação para buscar e consumir etanol, na autoadministração operante, em fases posteriores do desenvolvimento.

**Palavras - chave:** dependência; substâncias de abuso; etanol; estresse; adolescência; autoadministração.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 .....	16
Figura 2 .....	17
Figura 3 .....	18
Figura 4 .....	18
Figura 5 .....	19
Figura 6 .....	20
Figura 7.....	20

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1.....	15
---------------	----

## 1. INTRODUÇÃO

A dependência de drogas é conceituada como uma síndrome comportamental, na qual o uso da droga se torna prioridade na vida do indivíduo. De acordo com esse conceito, a dependência é caracterizada por um conjunto de sinais e sintomas indicativos de que o indivíduo perdeu o controle do uso da droga e o mantém independentemente das consequências adversas. Na sua forma extrema, a dependência caracteriza-se pelo uso compulsivo da substância. A dependência inclui ainda o surgimento de estados emocionais negativos (como disforia, ansiedade, irritabilidade), quando o acesso à substância é limitado, que caracterizam a síndrome abstinência da droga (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994).

Dentre as substâncias de abuso que causam dependência, atualmente, o etanol é considerado droga lícita em vários países, e é, também, uma das drogas de abuso mais utilizada no mundo (UNODC, 2010).

Dados do Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas (CEBRID) revelam que 74,6% da população brasileira já consumiu etanol pelo menos uma vez na vida, sendo que a porcentagem de dependentes na população geral foi estimada em 12,3% (CARLINI, 2006). Considerando a prevalência por faixa etária observa-se maior porcentagem de dependentes na população entre 18 – 24 anos (15%), seguida da faixa entre 25 – 34 (9%).

Estudos epidemiológicos mostram que muitos indivíduos experimentam vários tipos de substâncias psicoativas, por períodos variáveis de tempo, porém somente alguns desenvolvem a farmacodependência. Isto indica que fatores adicionais



àqueles relacionados à interação da substância psicoativa com o organismo influenciam a progressão para o uso compulsivo (O'BRIEN et al., 1986).

A identificação destes fatores é um grande desafio que permanece em pesquisa. Foi demonstrado que muitas variáveis interagem entre si para influenciar a probabilidade de que qualquer indivíduo inicie o uso abusivo de substâncias psicoativas ou se torne dependente. Fatores ambientais e sociais têm um papel muito importante no abuso das drogas e desenvolvimento da dependência às mesmas. Para alguns indivíduos, principalmente jovens, o uso de substâncias psicoativas pode significar uma forma de protesto contra a autoridade ou pode estar relacionado à ausência de outros meios de obtenção de prazer (O'BRIEN, 2005).

Nos últimos anos, a exposição ao estresse tem sido destacada como um fator importante na iniciação, manutenção e recaída ao uso de substâncias de abuso, incluindo o etanol (GAWIN, 1991; GORDON, 2002; GOEDERS, 2003). Estudos clínicos demonstram que indivíduos dependentes frequentemente citam a exposição a estímulos aversivos e estados negativos de humor como justificativa para o início, manutenção e recaída ao uso das substâncias psicoativas (WALLACE, 1989).

Além disso, a experiência com situações de estresse em animais, durante o início do desenvolvimento, pode ter efeitos duradouros sobre comportamentos relacionados com estresse e ansiedade, além de poder favorecer a autoadministração de substâncias de abuso (LOPEZ et al., 2011).

Vários modelos foram desenvolvidos para estudar os efeitos da exposição ao estresse sobre o consumo voluntário de álcool em ratos (FUNK et al., 2004; LYNCH et al., 1999; POHORECKY, 1990; VAN ERP e MICZEK, 2001; VENGELIENE et al., 2003). No entanto, as descobertas experimentais apresentaram diferentes resultados: ingestão de álcool pode aumentar ou diminuir sob condições

estressantes ou, ainda, pode não sofrer alterações (SIEGMUND et al., 2005). Tem sido sugerido que a interação entre álcool e estresse seja dependente do estímulo estressor e de variáveis como, por exemplo: as condições de moradia, escassez de alimentos, escolha de soluções de álcool, a duração e o tempo de estresse, entre outras (POHORECKY, 1990; SCHROFF et al., 2004).

No Brasil, o início do consumo de bebidas alcoólicas ocorre precocemente. GALDUROZ et al. (2004) relatam que 31,2% dos estudantes da rede pública de ensino, com idade entre 10 e 12 anos, já haviam feito uso na vida de etanol. O uso frequente entre os estudantes de ensino fundamental e médio foi de 8,4% e o uso pesado foi de 5,0%.

Enquanto certos atributos da adolescência humana são singulares, algumas características são expressas por adolescentes de diversas espécies e podem ser adaptativos do ponto de vista evolutivo (SPEAR, 2000). Por exemplo, de forma semelhante ao que ocorre em humanos nesse período, ratos, mostram aumento da investigação social e interação com os pares, da busca de novidades e da exploração de áreas desconhecidas. Esses comportamentos caracterizam o chamado comportamento de risco presente na adolescência (SPEAR, 2000).

Assim como em humanos, em roedores é difícil caracterizar detalhadamente os eventos que desencadeiam e cessam a adolescência. Contudo, é possível estabelecer um período no qual os animais exibem os comportamentos típicos dessa fase. Em ratos, o período mais citado como adolescência é entre os dias pós-natal (DPN) 28 e DPN42 (SPEAR, 2000).

Os adolescentes, assim como adultos, têm se mostrado susceptíveis ao efeito do estresse na vulnerabilidade ao abuso e dependência de substâncias. Pesquisas em humanos indicam que a exposição ao estresse na adolescência pode aumentar

o consumo das substâncias de abuso (SAKAI et al., 2004; FREISTHLER et al., 2005).

Tem-se utilizado modelos animais para analisar os efeitos do estresse no início da vida sobre o posterior consumo de etanol (SILLABER e HENNIGER, 2004). Em particular, os roedores têm sido amplamente utilizados para avaliar mudanças nos comportamentos relacionados ao medo e ao estresse, através do modelo de estresse crônico durante os períodos iniciais de desenvolvimento, o qual pode ocasionar mudanças comportamentais, incluindo alterações de comportamento relacionadas à ansiedade, alterações da atividade locomotora e comportamentos agressivos (HEFNER e HOLMES, 2007; MCCORMICK et al., 2007). O isolamento social durante a adolescência tem sido utilizado para examinar possíveis efeitos duradouros da exposição ao estresse sobre as respostas comportamentais, em ratos. (HALL et al., 1998; LEUSSIS e ANDERSEN, 2008; LEUSSIS et al., 2008). Além disso, foi demonstrado, em ratos, que o isolamento social crônico durante a adolescência, altera a resposta a várias drogas de abuso (GORDON, 2002; KABBAJ et al., 2002; MCCORMICK et al., 2004). Alguns estudos relatam aumento na autoadministração da substância na vida adulta (BARDO et al., 2001; DING et al., 2005; HOWES et al., 2000).

Modelos animais têm sido desenvolvidos para estudar aspectos comportamentais, relacionados à dependência do etanol. Neste sentido, a autoadministração operante de substâncias de abuso é preconizada como um dos modelos de maior valor preditivo para a investigação dos mecanismos da farmacodependência (LECCA, VALENTINI et al., 2007; PANLILIO e GOLDBERG, 2007). Estudos recentes demonstram que a autoadministração operante pode “modelar” preditivamente aspectos que marcam a transição do uso ocasional para a

dependência (PANLILIO e GOLDBERG, 2007). Por exemplo, um dos sinais da dependência, segundo o DSM-IV (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994) é o aumento da motivação para uso da substância psicoativa.

O uso de modelos animais em pesquisas oferece uma perspectiva única sobre os efeitos do álcool em adolescentes. A adolescência é especialmente importante para o estudo, porque é nessa época que muitas pessoas têm sua primeira experiência com álcool. Além disso, os adolescentes estão mais propensos a se envolverem em comportamentos de risco, uma vez que eles procuram novas situações e exploram áreas desconhecidas mais avidamente do que os adultos (SPEAR, 2000).

## **2. OBJETIVOS**

O objetivo do presente estudo era investigar se o estresse de privação social durante a adolescência aumentava o consumo e a motivação para a autoadministração operante de etanol ou sacarina em etapas posteriores do desenvolvimento.

## **3. METODOLOGIA**

### **3.1. Animais**

Foram utilizados ratos Wistar machos provenientes do biotério central da Universidade Estadual Paulista - UNESP. Os animais foram transferidos para o biotério do nosso laboratório, no dia pós-natal (DPN) 21, e mantidos em condições controladas de temperatura (23-24°C), ciclo de luz invertido (12/12 h, luz acesa às

19h) e livre acesso a alimento e água. Todos os experimentos foram realizados durante a fase escura do ciclo claro/escuro. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEUA-18/2011).

### **3.2. Soluções de etanol e de sacarina**

As soluções alcoólicas foram preparadas diluindo-se etanol em diferentes concentrações (2, 4 e 6% v/v) em solução de 0,05% (m/v) de sacarina. O grupo controle da autoadministração recebeu soluções de sacarina 0,05% (m/v).

### **3.3. Estresse na adolescência**

Este trabalho é uma parte de um projeto mais abrangente, realizado pelo doutorando Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira do Laboratório de Farmacologia, o qual realizou experimentos envolvendo diferentes protocolos de estresse, inclusive o de privação social.

No caso desta monografia, o protocolo de estresse de privação social foi o mesmo realizado no projeto do doutorando.

Com isso, os animais foram divididos em dois grupos: controle e privação social. Os animais do grupo submetido ao estresse foram mantidos isolados na sua caixa-moradia, privados de qualquer contato social durante 15 dias (DPN28-DPN42). Já os animais do grupo controle viveram em pares e só foram perturbados durante a limpeza das caixas-moradia.

### **3.4. Autoadministração operante de etanol ou sacarina**

As caixas de autoadministração são feitas de acrílico e ficam alocadas em câmaras de isolamento sonoro e luminoso. No laboratório, há um total de 6 caixas

de autoadministração. Uma das paredes da caixa contém um painel com duas barras localizadas a 5 cm do assoalho, duas lâmpadas de indicação (cor de laranja e verde) e uma lâmpada de luz branca que fica acesa durante toda sessão. Cada pressão na barra foi registrada como uma resposta, e cada infusão foi considerada como um reforço. Um dia após os 15 dias de estresse, os animais foram submetidos ao protocolo de autoadministração operante de etanol.

- **Aquisição:** os ratos tinham acesso ilimitado à solução de sacarina 0,05%, na qual uma pressão na barra era reforçada com 0,2 mL de solução (razão fixa 1; RF1). Cada sessão tinha a duração de 1 hora. Após três sessões de autoadministração de sacarina, foram realizadas duas sessões com etanol 2%, seguidas por duas sessões de etanol 4% e duas sessões de etanol 6%, todos em RF1. O grupo controle recebeu sacarina em todas as sessões.

- **Manutenção:** Após as duas sessões de álcool 6% em RF1 a razão foi aumentada para RF3 em sessões de 3 horas. Esse procedimento foi repetido por 5 dias.

- **Razão progressiva:** a progressão das razões obedecia à seguinte sequência 1, 1, 3, 3, 5, 5, 7, 7, 9, 9, 11, 11, 13, 13, 15, 15, 17, 17, 18, 18, 19, 19, 20, 20, 21, 21, 22, 22,... O final da sessão ocorria quando o animal ficava 1 hora sem receber uma infusão da solução. A última sessão alcançada recebe o nome de ponto de ruptura. Após 3 sessões de RP foi feita uma média das respostas obtidas no experimento. O tempo de duração desta fase varia conforme a quantidade de grupos e da motivação dos animais.

- **“Binge” 24h de acesso ilimitado:** Após a RP os animais foram submetidos a uma sessão de acesso ilimitado por 24 horas em RF1. Os parâmetros de autoadministração foram registrados nas primeiras 12 horas (fase escura), nas últimas 12 horas (fase clara) e durante toda sessão (24 horas). Como existem 6

caixas de autoadministração (item 3.4) e havia um total de 32 animais no experimento, esta fase foi realizada em 6 dias.

#### 4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Ratos adolescentes (DPN28) (N = 14) foram submetidos ao estresse de privação social, como descrito no item 3.3. Os animais do grupo controle (N = 18) foram mantidos em pares. Vinte e quatro horas após o último dia de exposição ao estresse, os animais foram submetidos ao protocolo de autoadministração operante de etanol ou sacarina (item 3.4). Desse modo, tivemos os seguintes grupos: controle-sacarina (N = 9), estresse-sacarina (N = 7), controle-etanol (N = 9) e estresse-etanol (N = 7). O quadro abaixo descreve a fase do desenvolvimento dos animais correspondente aos procedimentos que foram submetidos.

<b>IDADE DOS ANIMAIS AO LONGO DO EXPERIMENTO</b>	
<b>DPN</b>	<b>Procedimento</b>
28 – 42	Estresse
43 – 45	Treino autoadministração
46 – 51	Aquisição
52 – 56	Manutenção RF3
57 – 62	RP
63 – 68	Binge

**Quadro 1:** Idade dos animais ao longo do experimento.

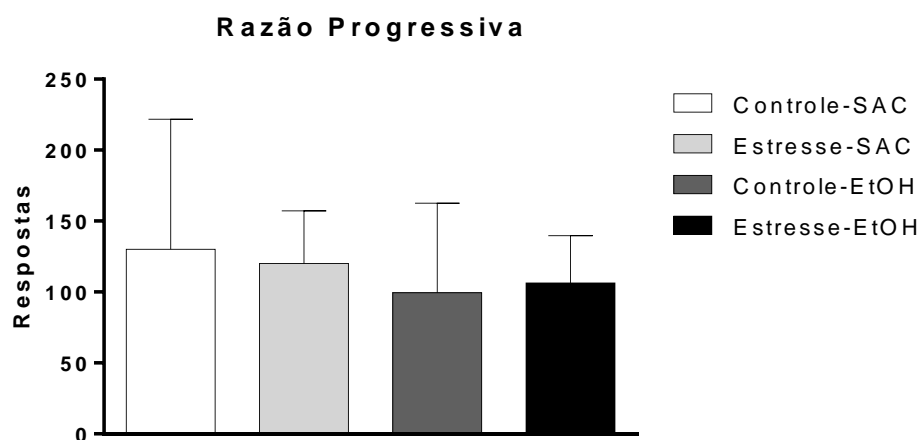
## 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados por ANOVA bifatorial, considerando os fatores exposição ao estresse (isolamento social vs controle) e substância (etanol vs sacarina). Alterações significativas foram consideradas com  $p < 0,05$ . Os resultados do consumo de sacarina e consumo de etanol (g/Kg), entre os grupos controle e estresse foram avaliados pelo teste t-Student.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Avaliação das Variáveis da Razão Progressiva na Autoadministração

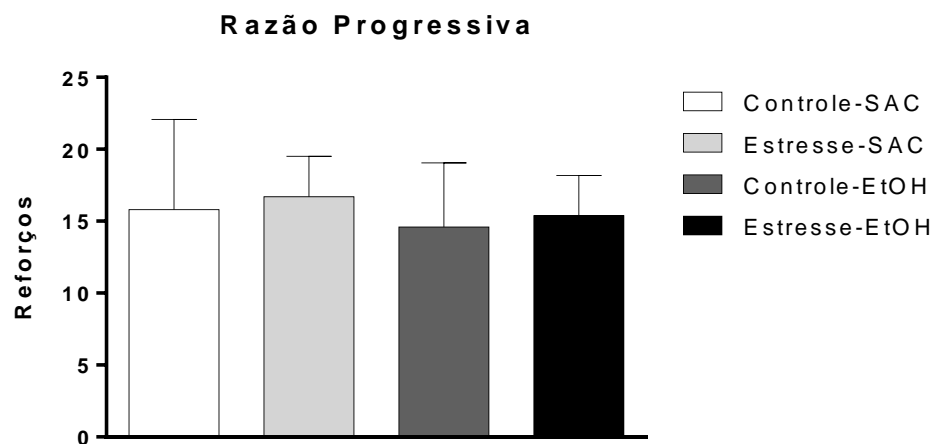
A figura 1 mostra a média do número de respostas, durante as sessões de razão progressiva. ANOVA não indicou diferença significativa para o fator estresse [ $F(3,28) = 0,005175$ ;  $p = 0,9432$ ] e fator tratamento [ $F(3,28) = 0,9477$ ;  $p = 0,3386$ ]. Também não foi observada interação significativa entre os fatores estresse e tratamento [ $F(3,28) = 0,1424$ ;  $p = 0,708$ ].



**Figura 1.** Número de respostas no protocolo de razão progressiva. As barras representam a média  $\pm$  EPM de 7 a 9 animais por grupo (EtOH – Etanol; SAC – Sacarina).

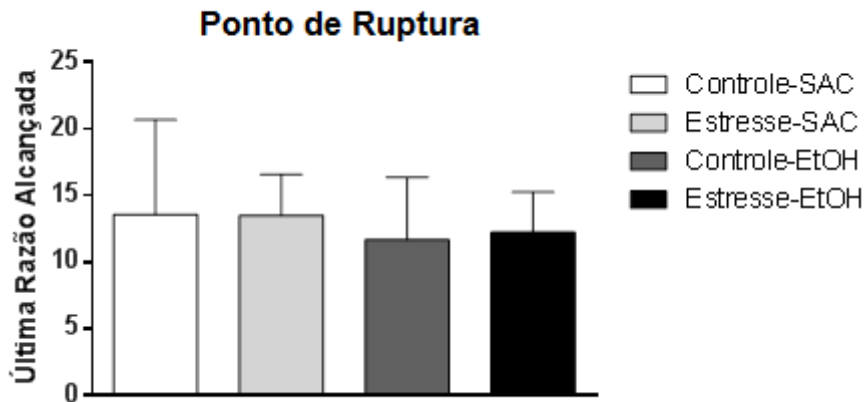


A figura 2 mostra a média do número de reforços durante as sessões de razão progressiva. ANOVA não indicou diferença significativa para o fator estresse [ $F(3,28) = 0,2743$ ;  $p = 0,6046$ ] e fator tratamento [ $F(3,28) = 0,6159$ ;  $p = 0,4392$ ]. Também não foi observada interação significativa entre os fatores estresse e tratamento [ $F(3,28) = 0,00087$ ;  $p = 0,97$ ].



**Figura 2.** Número de reforços no protocolo de razão progressiva. As barras representam a média  $\pm$  EPM de 7 a 9 animais por grupo (EtOH – Etanol; SAC – Sacarina).

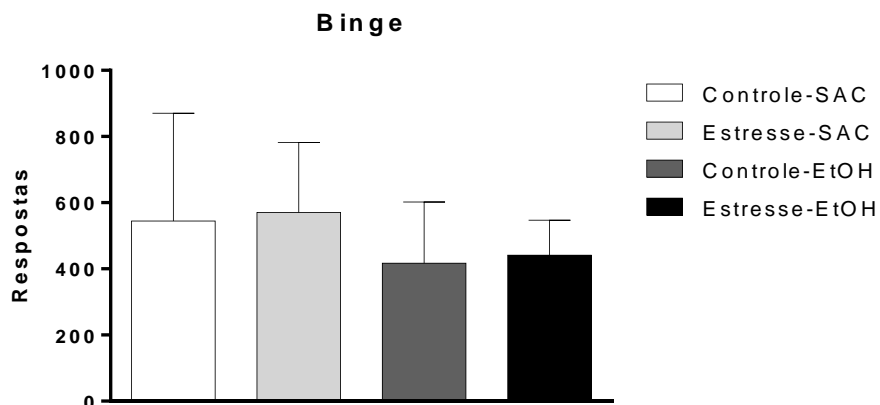
A figura 3 mostra a média da última razão completada (ponto de ruptura), durante as sessões de razão progressiva. ANOVA não indicou diferença significativa para o fator estresse [ $F(3,28) = 0,01540$ ;  $p = 0,9021$ ] e fator tratamento [ $F(3,28) = 0,8024$ ;  $p = 0,3780$ ]. Também não foi observada interação significativa entre os fatores estresse e tratamento [ $F(3,28) = 0,025$ ;  $p = 0,87$ ].



**Figura 3.** Média da última razão alcançada (ponto de ruptura) no esquema de razão progressiva. As barras representam a média  $\pm$  EPM de 7 a 9 animais por grupo (EtOH – Etanol; SAC – Sacarina).

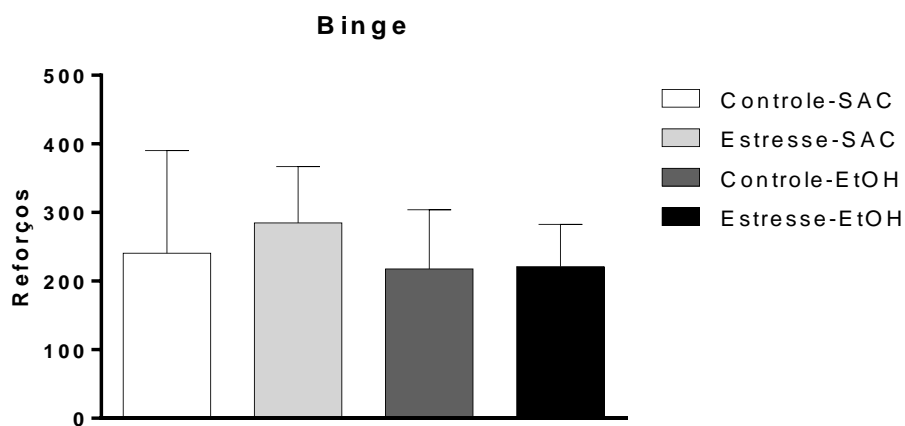
## 6.2. Avaliação do consumo prolongado (Binge)

A figura 4 mostra o número de respostas durante as sessões de binge de 24 horas. ANOVA não indicou diferença significativa para o fator estresse [ $F(3,28) = 0,09394$ ;  $p = 0,7615$ ] e fator tratamento [ $F(3,28) = 2,485$ ;  $p = 0,1262$ ]. Também não foi observada interação significativa entre os fatores estresse e tratamento [ $F(3,36) = 0,00$ ;  $p = 0,99$ ].



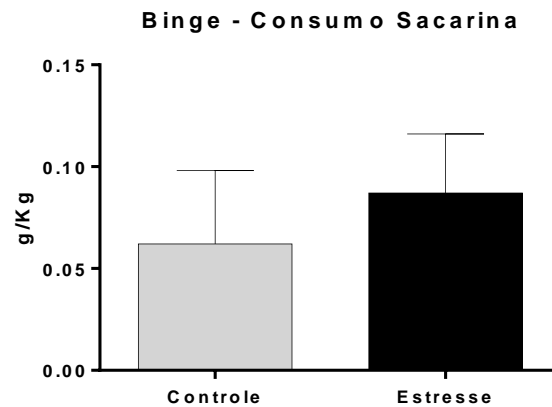
**Figura 4.** Número de respostas em uma sessão de acesso livre (RF1, 24 horas). As barras representam a média  $\pm$  EPM de 7 a 9 animais por grupo (EtOH – Etanol; SAC – Sacarina).

A figura 5 mostra o número de reforços durante as sessões de binge de 24 horas. ANOVA não indicou diferença significativa para o fator estresse [ $F(3,28) = 0,09394$ ;  $p = 0,7615$ ] e fator tratamento [ $F(3,28) = 1,364$ ;  $p = 0,2527$ ]. Também não foi observada interação significativa entre os fatores estresse e tratamento [ $F(3,28) = 0,308$ ;  $p = 0,58$ ].



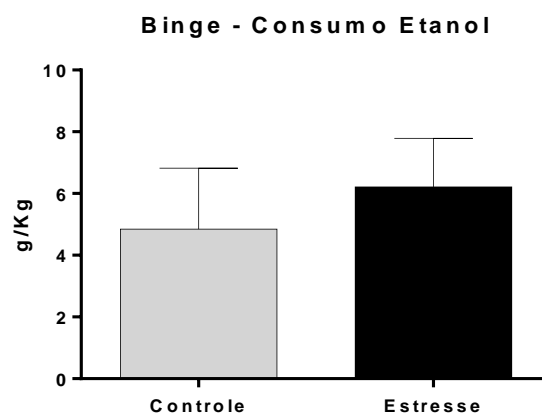
**Figura 5.** Número de reforços em uma sessão de acesso livre (RF1, 24 horas). As barras representam a média  $\pm$  EPM de 7 a 9 animais por grupo (EtOH – Etanol; SAC – Sacarina).

A figura 6 mostra o consumo (g/Kg) de sacarina durante as sessões de binge de 24 horas. O teste t-Student não mostrou diferença significativa no consumo de sacarina entre o grupo controle e estresse ( $t(1,14) = -1,49$ ;  $p = 0,63$ ).



**Figura 6.** Média do consumo geral de sacarina (g de sacarina/Kg de animal) para o grupo controle (n= 9) e o grupo exposto a estresse de isolamento social (n= 7), em uma sessão de acesso livre (RF1, 24 horas).

A figura 7 mostra o consumo (g/Kg) de etanol durante as sessões de binge de 24 horas. O teste T-Student não mostrou diferença significativa no consumo de sacarina entre o grupo controle e estresse ( $t(1,14) = -1,487$ ;  $p = 0,61$ ).



**Figura 7.** Média do consumo geral de etanol (g de etanol/Kg de animal) para o grupo controle (n= 9) e o grupo exposto a estresse de isolamento social (n= 7), em uma sessão de acesso livre (RF1, 24 horas).

## 7. DISCUSSÃO

Avaliamos, no modelo animal de autoadministração operante, se o isolamento social altera o consumo e a motivação para obtenção de soluções etanólicas (6%) ou de sacarina. Para isso, utilizamos o acesso ilimitado durante 24 horas (binge), que verifica a quantidade de substância ingerida pelo animal (ROBERTS; MORGAN; LIU, 2007), e a razão progressiva, que, através do ponto de ruptura, demonstra o quanto motivado está o animal para obter a droga (MORGAN; ROBERTS, 2004; RICHARDSON; ROBERTS, 1996). Foi realizada a análise estatística dos resultados obtidos, como foi apresentado, e não se observou alteração significativa no ponto de ruptura e no consumo de etanol durante as sessões de “binge”, pelo grupo exposto ao estresse, quando os animais foram colocados em uma sessão de acesso livre, por 24 horas.

Até o momento poucos estudos utilizaram o modelo de autoadministração operante para demonstrar o efeito do estresse sobre o comportamento de busca pelo etanol. DEEHAN e colaboradores (2011) verificaram o efeito da privação social sobre o consumo de etanol 10% utilizando tanto o modelo de autoadministração operante quanto o modelo de livre escolha. Nesse trabalho, eles usaram duas linhagens de animais, ratos com preferência natural pelo etanol (PEtOH) e ratos sem preferência natural pelo etanol (NPEtOH). Os resultados mostraram que apesar dos ratos PEtOH consumirem mais etanol do que os ratos NPEtOH, a privação social crônica não foi capaz de alterar a preferência de etanol em comparação com os grupos controle no modelo de livre escolha. No modelo de autoadministração operante eles observaram que apenas os ratos PEtOH submetidos ao estresse aumentaram a procura pelo etanol. Já nos animais NPEtOH não houve diferença

entre os grupos socialmente privados e o controle na busca pelo etanol. Além disso, esse estudo mostrou que o estresse crônico não alterou a motivação para obter o etanol nos animais PEtOH e NPEtOH, avaliada através da razão progressiva. Consumo de sacarose 10% foi igual entre os animais dos grupo estresse e grupo controle.

DEEHAN; CAIN; KIEFER (2007) mostraram ratos Long-Evans submetidos a 12 semanas de privação social aumentaram o número de respostas para obter etanol 10% no modelo de autoadministração operante, quando comparados com o grupo controle. Já o consumo de sacarose 20% foi igual entre os grupos.

Dados da literatura demonstraram que ratos submetidos à privação social não alteraram a ingestão de sacarina e consumiram a mesma quantidade de etanol que o grupo controle quando foram oferecidas soluções etanólicas de 2%, 4%, 8% e 10%. Os grupos só exibiram aumento no consumo após a oferta de solução 16% (FAHLKE; HARD; ERIKSSON, 1997; HALL et al., 1998).

LODGE; LAWRENCE (2003) mostraram que o estresse de privação social não altera o consumo de etanol a 5%, quando comparados com ratos criados em grupo. Além disso, foi demonstrado que animais submetidos à privação social têm diminuição na preferência e no consumo de etanol nas concentrações de 2%, 4% e 6% (FAHLKE; HARD; ERIKSSON, 1997). PISU et al (2011) mostraram que ratos privados de contato social durante a adolescência apresentaram diminuição na preferência por etanol e que o consumo dessa substância foi igual ao grupo controle nas concentrações de 2,5%, 5%, 7,5% e 10%.

Estes dados sugerem que uma proporção da variabilidade na autoadministração de, pelo menos, algumas drogas, poderia ser explicado pelas condições de alojamento. Além disso, estas observações indicam que a privação

social aumenta o consumo e a procura por etanol apenas quando há o acesso a soluções mais concentradas de álcool.

Foi reportado que a magnitude do efeito do estresse sobre o consumo de álcool também pode ser afetada pela idade. Por exemplo, SIEGMUND e colaboradores (2005) submeteram ratos machos, que começaram a beber quando adolescentes ou adultos, a 3 dias consecutivos de natação forçada e choques elétricos nas patas, e, em seguida, a 16 e 26 semanas de acesso livre de álcool, respectivamente. Eles mostraram que o estresse de natação produziu um ligeiro aumento no consumo de álcool, que não foi afetada pela idade, enquanto que o estresse de choques nos pés induziu um aumento mais acentuado no consumo de álcool, que foi significativamente maior nos ratos que começaram a beber na adolescência do que nos adultos. Por outro lado, DEATHRIDGE (1972) realizou um estudo semelhante ao nosso, no qual animais foram isolados socialmente ou divididos em grupos de 6, a partir da 6ª semana de idade, e, em seguida, submetidos a autoadministração de etanol. Em seus experimentos, não obteve qualquer diferença entre os grupos analisados.

Esta diferença de resultados pode ser explicada por pesquisas que sugerem que a forma com que o estresse influencia na ingestão de etanol, depende de muitos fatores, tais como o protocolo de estresse utilizado (por exemplo, ROSKE et al., 1994).

Outro estudo, semelhante ao realizado em nosso laboratório, também não observou efeitos do isolamento social no consumo de etanol (KAZMIAIER, BUTCHER E SENTER, 1973). Neste, os animais foram isolados por 25 dias, o que gera a possibilidade de que, independentemente do tempo de isolamento, esse

estresse de privação social não seja suficiente para alterar a motivação e aumentar o consumo de etanol.

## 8. CONCLUSÕES

Os nossos resultados indicam que a exposição ao estresse de isolamento social, durante a fase da adolescência, não foi capaz de aumentar a motivação para a busca e o consumo de etanol na autoadministração operante, em fases posteriores do desenvolvimento.

## 9. REFERÊNCIAS

**Diagnostic and statistical manual of mental disorders.** 4 ed. Washington, DC: American psychiatris association, 1994.

BARDO, M. T.; KLEBAUR, J. E.; VALONE, J. M.; DEATON, C. Environmental enrichment decreases intravenous self-administration of amphetamine in female and male rats. **Psychopharmacol (Berl.)**, v.155, p.278-284, 2001.

CARLINI, E.A. Epidemiology of alcohol use in Brazil. **Arq Méd ABC**, v.2, p.4-7, 2006.

CRUZ, F. C.; QUADROS, I. M.; PLANETA, C.S.; MICZEK, K.A. Maternal separation stress in male mice: long-term increases in alcohol intake. **Psychopharmacol (Berl)**, v.201, n.3, p.459-468, 2008.



DEATHRIDGE, G. Effects of housing density on alcohol intake in the rat. **Physiol Behav**, v.9, p.55-57, 1972.

DEEHAN JUNIOR, G.A.; CAIN, M.E.; KIEFER, S.W. Differential rearing conditions alter operant responding for ethanol in outbred rats. **Alcohol Clin Exp Res**, v.31, p.1692-1698, 2007.

DEEHAN, G.A. JR.; PALMATIER, M.I.; CAIN, M.E.; KIEFER, S.W. Differential rearing conditions and alcohol-preferring rats: consumption of and operant responding for ethanol. **Behav Neurosci.**, v.125, p.184-193, 2011.

DING, Y.; KANG, L.; LI, B.; MA, L. Enhanced cocaine self-administration in adult rats with adolescent isolation experience. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.82, p.673-677, 2005.

ECONOMIDOU, D.; FEDELI, A.; MARTIN, F.R.; WEISS, F.; MASSI, M.; CICCOCIOPPO, R. Effect of novel nociceptin/orphanin FQ-NOP receptor ligands on ethanol drinking in alcohol-preferring msP rats. **Peptides**, v.27, n.12, p.3299-306, 2006.

FAHLKE, C.; HARD, E.; ERIKSSON, C.J. Effects of early weaning and social isolation on subsequent alcohol intake in rats. **Alcohol**, v.14, p.175-180, 1997.

FREISTHLER, B.; NEEDELL, B.; GRUENEWALD, P. J. Is the physical availability of alcohol and illicit drugs related to neighborhood rates of child maltreatment? **Child Abuse Negl.** v.29, p.1049-1060, 2005.

FUNK, D.; VOHRA, S.; LE, A.D. Influence of stressors on the rewarding effects of alcohol in Wistar rats: studies with alcohol deprivation and place conditioning. **Psychopharmacology (Berl)**, v.176, p.82-87, 2004.

GALDUROZ, J. C. F.; NOTO, A. R.; NAPPO, S.A.; CARLINI, E.A. Trends in drug use among students in Brazil: analysis of four surveys in 1987, 1989, 1993 and 1997. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.37, n.4, p.523-531, 2004.

GAWIN, F.H. Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. **Science**, v. 251, p. 1580-1586, 1991.

GOEDERS, N.E. The impact of stress on addiction. **Eur Neuropsychopharmacol.**, v.13, p.435-444, 2003.

GORDON, H.W. Early environmental stress and biological vulnerability to drug abuse. **Psychoneuroendocrinology**, v. 27, p.115-116, 2002.

HALL, F.S.; HUANG, S.; FONG, G.W.; PERT, A.; LINNOILA, M. Effects of isolation-rearing on voluntary consumption of ethanol, sucrose and saccharin solutions in Fawn Hooded and Wistar rats. **Psychopharmacology (Berl)**, v.139, p.210-216, 1998.

HEFNER, K.; HOLMES, A. Ontogeny of fear-, anxiety- and depression-related behavior across adolescence in C57BL/6J mice. **Behav. Brain Res.**, v.176, p.210-215, 2007.

HOWES, S. R.; DALLEY, J. W.; MORRISON, C. H.; ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. Leftward shift in the acquisition of cocaine self-administration in isolation-reared rats: relationship to extracellular levels of dopamine, serotonin and glutamate in the nucleus accumbens and amygdala-striatal FOS expression. **Psychopharmacology (Berl.)**, v.151, p.55-63, 2000.

HUANG, B.; DAWSON, D. A.; STINSON, F. S.; HASIN, D. S.; RUAN, W. J.; SAHA, T. D.; SMITH, S. M.; GOLDSTEIN, R. B.; GRANT, B. F. Prevalence, correlates, and comorbidity of nonmedical prescription drug use and drug use disorders in the United States: Results of the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. **J Clin Psychiatry.**, v.67, p.1062-1073, 2006.

KABBAJ, M.; ISGOR, C.; WATSON, S. J.; AKIL, H. Stress during adolescence alters behavioral sensitization to amphetamine. **Neuroscience**, v.113, p.395-400, 2002.

KAZMIAIER, K.; BUTCHER, R. E.; SENTER, R. J. Rearing conditions and ethanol consumption by rats. **Q. J. Stud. Alcohol.**, v.4, p.520-524, 1973.

LEÃO, R.M.; CRUZ, F.C.; MARIN, M.T.; PLANETA, C.S. Stress induces behavioral sensitization, increases nicotine-seeking behavior and leads to a decrease of CREB

in the nucleus accumbens. **Pharmacol Biochem Behav.** v.101, n.3, p.434-442, 2012.

LECCA, D.; VALENTINI, V.; CACCIAPAGLIA, F.; ACQUAS, E.; DI CHIARA, G. Reciprocal effects of response contingent and noncontingent intravenous heroin on in vivo nucleus accumbens shell versus core dopamine in the rat: a repeated sampling microdialysis study. **Psychopharmacology (Berl)**, v.194, n.1, p.103-16, 2007.

LEUSSIS, M.; ANDERSEN, S. Is adolescence a sensitive period for depression? Behavioral and neuroanatomical findings from a social stress model. **Synapse.**, v.62, p22-30, 2008.

LEUSSIS, M.; LAWSON, K.; STONE, K.; ANDERSEN, S. The enduring effects of an adolescent social stressor on synaptic density, part II: poststress reversal of synaptic loss in the cortex by adinazolam and MK-801. **Synapse.**, v.62, p.185-192, 2008.

LODGE, D.J.; LAWRENCE, A.J. The effect of isolation rearing on volitional ethanol consumption and central CCK/dopamine systems in Fawn-Hooded rats. **Behav Brain Res.**, v.141, p.113-122, 2003.

LOPEZ, M.F.; DOREMUS-FITZWATER, T.L.; BECKER, H.C. Chronic social isolation and chronic variable stress during early development induce later elevated ethanol intake in adult C57BL/6J mice. **Alcohol.**, v.45, p.355-364, 2011.

LYNCH, W.J.; KUSHNER, M.G.; RAWLEIGH, J.M.; FISZDON, J.; CARROLL, M.E. The effects of restraint stress on voluntary ethanol consumption in rats. **Exp Clin Psychopharmacol** ., v.7, p.318-323, 1999.

MCCORMICK, C. M.; MERRICK, A.; SECEN, J.; and HELMREICH, D. L. Social instability in adolescence alters the central and peripheral hypothalamic-pituitary-adrenal responses to a repeated homotypic stressor in male and female rats. **J. Neuroendocrinol.** v.19, p.116-126, 2007.

MCCORMICK, C. M.; ROBARTS, D.; GLEASON, E.; KELSEY, J. E. Stress during adolescence enhances locomotor sensitization to nicotine in adulthood in female, but not male, rats. **Horm. Behav.**, v.46, p.458-466, 2004.

MORGAN, D.; ROBERTS, D.C. Sensitization to the reinforcing effects of cocaine following binge-abstinent self-administration. **Neurosci Biobehav Rev.**, v.27, p.803-812, 2004.

O'BRIEN, C.P. Drug addiction and drug abuse. In: BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. (Ed.). **Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 11<sup>th</sup> ed. New York: Pergamon Press, 2005. p. 607-627.

O'BRIEN, C.P.; EHRMAN, R.N.; TERNS, J.N. Classical conditioning in human opioid dependence. In: GOLBERG, S.R.; STOLORLEMAN, I.P. (Ed.) **Behavioral Analysis of Drug-dependence**, London: Academic Pres, 1986. p.329.

PANLILIO, L.V.; GOLDBERG, S.R. Self-administration of drugs in animals and humans as a model and an investigative tool. **Addiction**, v.102, n.12, p.1863-70, 2007.

PISU, M.G.; MOSTALLINO, M.C.; DORE, R.; MACIOCCO, E.; SECCI, P.P.; SERRA, M. Effects of voluntary ethanol consumption on emotional state and stress responsiveness in socially isolated rats. **Eur Neuropsychopharmacol**, v.21, p.414-425, 2011.

PLANETA, C.S.; LEÃO, R.M.; CRUZ, F.C. Repeated exposure to variable stress induces behavioral sensitization to nicotine and increases the break-point of intravenous nicotine self-administration in rats. **7th FENS - Forum of European Neuroscience**, 2010, Amsterdam. Abstract on line, v.5. 2010.

POHORECKY, L.A. Interaction of ethanol and stress: research with experimental animals: an update. **Alcohol**, v.25, p.263-276, 1990.

RICHARDSON, N.R.; ROBERTS, D.C. Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. **J Neurosci Methods**, v.66, p.1-11, 1996.

ROBERTS, D.C.; MORGAN, D.; LIU, Y. How to make a rat addicted to cocaine. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v.31, p.1614-1624, 2007.

ROSKE, I.; BAEGER, I.; FRENZEL, R.; OEHME, P. Does a relationship exist between the quality of stress and the motivation to ingest alcohol? **Alcohol.**, v.11, p.113-124, 1994.

SAKAI, J.T.; HALL, S.K.; MIKULICH-GILBERTSON, S.K.; CROWLEY, T.J. Inhalant use, abuse, and dependence among adolescent patients: commonly comorbid problems. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**, v.43, p.1080-1088, 2004.

SCHROFF, K.C.; COWEN, M.S.; KOCH, S.; SPANAGEL, R. Strain specific responses of inbred mice to ethanol following food shortage. **Addict Biol.**, v.9, p.265-271, 2004.

SIEGMUND, S.; VENGELIENE, V.; SINGER, M.V.; SPANAGEL, R. Influence of age at drinking onset on long-term ethanol self-administration with deprivation and stress phases. **Alcohol Clin Exp Res**, v.29, p.1139-1145, 2005.

SILLABER, I.; HENNIGER, M. S. Stress and alcohol drinking. **Ann. Med.**, v.36, p.596-605, 2004.

SPEAR, L. Modeling adolescent development and alcohol use in animals. **Alcohol Res Health**, v.24, n.2, p.115-23, 2000.

SPEAR, L.P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. **Neuroscience Biobehavior**. v.24, p.417-463, 2000.

UNODC. **World Drug Report: United Nations Publication**, v.E.10.XI.13. 2010.

VAN ERP, A.M.; MICZEK, K.A. Persistent suppression of ethanol selfadministration by brief social stress in rats and increased startle response as index of withdrawal. **Physiol Behav.**, v.73, p301-311, 2001.

VASTOLA, B.J.; DOUGLAS, L.A.; VARLINSKAYA, E.I.; SPEAR, L.P. Nicotine induced conditioned place preference in adolescent and adult rats. **Physiol Behav.**, v.77, p.107-114, 2002.

VENGELIENE, V.; SIEGMUND, S.; SINGER, M.V.; SINCLAIR, J.D.; LI, T.K.; SPANAGEL, R. A comparative study on alcohol-preferring rat lines: effects of deprivation and stress phases on voluntary alcohol intake. **Alcohol Clin Exp Res.**, v.27, p.1048-1054, 2003.

WALLACE, A. An active role for patients in stress management. **Prof Nurse**. v.5, p.65-72, 1989.