

**Solange Lúcia Blatt**

**Influência dos níveis basais de ansiedade no  
efeito reforçador e na memória social em ratos  
tratados com etanol**

**Dissertação apresentada ao  
curso de Pós-Graduação em  
Farmacologia da Universidade  
Federal de Santa Catarina como  
requisito parcial para a  
obtenção do título de Mestre em  
Farmacologia.**

**Orientador: Dr. Reinaldo Naoto  
Takahashi  
Departamento de Farmacologia**

**FLORIANÓPOLIS**

**1997**


**“INFLUÊNCIA DOS NÍVEIS BASAIS DE ANSIEDADE NO EFEITO  
REFORÇADOR E NA MEMÓRIA SOCIAL EM RATOS TRATADOS COM  
ETANOL.”**

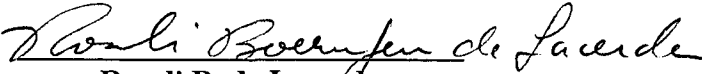
**POR**


**SOLANGE LÚCIA BLATT**


**Dissertação julgada e aprovada em sua  
forma final, pelo Orientador e membros  
da Banca Examinadora, composta pelos  
Professores Doutores:**

**Banca Examinadora:**

  
\_\_\_\_\_  
**Reinaldo Naoto Takahashi**  
**(FMC/UFSC-Membro-Titular)**

  
\_\_\_\_\_  
**Roseli B. de Lacerda**  
**(UFPR)-Membro-Titular)**

  
\_\_\_\_\_  
**Gina Struffaldi Morato**  
**(FMC/UFSC)-Membro Titular)**

  
**Prof. Dr. Giles Alexander Rae**  
**Coordenador do Curso de Pós-Graduação**  
**em Farmacologia da UFSC**

**Florianópolis, novembro de 1997.**

BLATT, S.L. Influência dos níveis basais de ansiedade no efeito reforçador e na memória social em ratos tratados com etanol. Florianópolis, 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Dr. Reinaldo Naoto Takahashi

Defesa: 28/11/1997

Com a finalidade de examinar a relação entre os níveis basais de ansiedade e alguns dos efeitos do etanol (EtOH), como a ação reforçadora e o efeito sobre a memória social, ratos Wistar foram selecionados e classificados como "ansiosos" (A), "intermediários" (I) e "não-ansiosos" (NA) no labirinto em cruz elevado (LCE) de acordo com procedimento utilizado em estudos prévios (Rogério & Takahashi, 1992). Animais classificados como ansiosos apresentaram significativo efeito reforçador em diferentes doses de EtOH. No teste de memória social com tempos diferentes de exposição, 30 e 120 min, ratos do grupo "I" apresentaram efeito no sentido de facilitar a memória, sob ação do EtOH. Para o grupo "A" a facilitação foi diferenciada. O uso de um estímulo novo neste teste parece ser mais suscetível à facilitação causada pelo EtOH. A facilitação da memória induzida pelo EtOH mostra-se dissociada de um possível efeito sedativo do EtOH e parece contribuir para as respostas comportamentais no teste de PCL. Vale enfatizar a relevância da reatividade emocional basal de ratos para os efeitos comportamentais desencadeados pelo etanol.

[Ansiedade] [Labirinto em cruz elevado] [Preferência de lugar] [Etanol] [Memória social]  
[Ratos]

# *Agradecimentos especiais*

*À Deus, por nunca ter me deixado nos momentos difíceis e por me ter permitido chegar até aqui.*

*Aos meus pais, Lothar e Dyva Anida, e aos meus irmãos, que sempre estiveram presentes, em todos os momentos dando o estímulo de que eu precisava.*

*Ao Dr. Reinaldo, pela orientação, pelo incentivo constante ao ensino e pesquisa.*

*Ao Pedro Gilberto, pelo apoio e respeito ao meu exercício da ciência.*

*À Prof. Clarmi Regis, pelos trabalhos técnicos, amizade e dedicação sempre presentes.*

## Agradecimentos

Aos mestres do Departamento de Farmacologia, pela lição de saber, pela orientação constante, pela dedicação e renúncias pessoais, por repartirem suas experiências de vida e me auxiliarem a trilhar este caminho, manifesto meu reconhecimento e estima.

Aos funcionários do Departamento de Farmacologia, que contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Biotério do Departamento de Farmacologia, pelos cuidados especiais aos animais.

Aos amigos, Alvorita, Rubens, Tânia e Terezinha, pelos anos de convivência, os momentos de trabalho, estudo e diversão. A divisão das alegrias, tristezas, dificuldades e vitórias fazem de vocês pessoas impossíveis de esquecer.

Aos colegas de turma, Anna Paula, Karina, Rodrigo e Sandro e aos colegas da pós-graduação, pela colaboração e companherismo.

Ao Laboratório da Polícia Técnica por permitirem a realização das dosagens bioquímicas.

**Finalmente, a todas as pessoas que, de alguma maneira, contribuíram para a realização desta dissertação.**

**Ao CNPq, pelo apoio financeiro.**

**“To see a world in a grain of sand  
and a heaven in a wild flower,  
Hold infinity in the palm of your hand  
and eternity in an hour.”**

**William Blake**

LISTA DE ABREVIACÕES.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
LISTA DE TABELAS.....	iv
RESUMO.....	v
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - OBJETIVOS.....	22
3 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 - ANIMAIS.....	23
3.2 - DROGAS E REAGENTES.....	23
3.3 - APARELHO E PROCEDIMENTO.....	24
3.3.1- TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	24
3.3.2- TESTE DE PREFERÊNCIA CONDICIONADA DE LUGAR.....	25
3.3.3- TESTE DE MEMÓRIA SOCIAL.....	27
3.3.4- TESTE DE MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA.....	28
3.3.5- DOSAGEM PLASMÁTICA DO ETANOL.....	29
4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	29
5 - RESULTADOS .....	30
5.1 - Seleção de ratos em grupos de animais ansiosos, intermediários e não-ansiosos no labirinto em cruz elevado: influência do padrão comportamental basal.....	30
5.2 - Influência do etanol no teste de preferência de lugar em ratos previamente selecionados no labirinto em cruz elevado .....	33



5.3 -	Determinação do nível sanguíneo do etanol em ratos submetidos ao teste de preferência condicionada de lugar .....	37
5.4 -	Avaliação da influência do etanol na memória social, utilizando um único estímulo olfativo, em ratos previamente selecionados no labirinto em cruz elevado .....	39
5.5 -	Avaliação da influência do etanol na memória social, utilizando um estímulos olfativos diferentes, em ratos previamente selecionados no labirinto em cruz elevado .....	45
5.6 -	Avaliação da atividade locomotora com diferentes doses de etanol em animais ansiosos, intermediários e não-ansiosos .....	50
6 -	DISCUSSÃO.....	55
7 -	CONCLUSÕES.....	75
8 -	ABSTRACT.....	77
9 -	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79

**LISTA DE ABREVIÇÕES**

5-Ht	5-hidroxitriptamina
A	Ansiosos
AA	Ratos com alta ingesta voluntária de etanol
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ANA	Ratos com baixa ingesta voluntária de etanol
AVP	Vasopressina
BZD	Benzodiazepínico
Ca <sup>++</sup>	Cálcio
DA	Dopamina
DOPAérgicos	Dopaminérgico
E.D.T.A	Etilenodiaminotetracético
e.p.m.	Erro padrão da média
EA	Entrada no braço aberto
EF	Entrada no braço fechado
EtOH	Etanol
GABA	Ácido gama-amino butírico
I	Intermediário
i.p.	Intraperitoneal
LCE	Labirinto em cruz elevado
NA	Não-ansiosos
NMDA	N-metil-D-aspartato
NP	Ratos que não preferem álcool
P	Ratos que preferem álcool
PCL	Preferência condicionada de lugar
RHA	Ratos muito reativos
RLA	Ratos pouco reativos
SNC	Sistema nervoso central
TA	Tempo nos braços abertos
TF	Tempo nos braços fechados
TO	Total de entradas

<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>PÁG.</b>
FIGURA 1 - Tempo de permanência de ratos ansiosos, intermediários e não-ansiosos no comportamento pareado com a droga, na caixa de preferência condicionada de lugar após quatro dias de condicionamento.....	36
FIGURA 2 - Tempo de investigação social de ratos adultos ansiosos, junto ao mesmo rato jovem, aos 30 e 120 min .....	42
FIGURA 3 - Tempo de investigação social de ratos adultos intermediários, junto ao mesmo rato jovem, aos 30 e 120 min.....	43
FIGURA 4 - Tempo de investigação social de ratos adultos não-ansiosos, junto ao mesmo rato jovem, aos 30 e 120 min.....	44
FIGURA 5 - Tempo de investigação social de ratos adultos ansiosos.....	47
FIGURA 6 - Tempo de investigação social de ratos adultos intermediários.....	48
FIGURA 7- Tempo de investigação social de ratos adultos não-ansiosos.....	49
FIGURA 8 - Avaliação do efeito do etanol sobre a atividade locomotora em ratos ansiosos, medida em diferentes intervalos de tempo.....	52
FIGURA 9 - Avaliação do efeito do etanol sobre a atividade locomotora em	53

ratos intermediários, medida em diferentes intervalos de tempo.....

**FIGURA 10 - Avaliação do efeito do etanol sobre a atividade locomotora 54**  
em ratos não-ansiosos, medida em diferentes intervalos de tempo.....

<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>PÁG.</b>
TABELA 1 - Parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado para seleção prévia de ratos classificados em ansiosos, intermediários e não-ansiosos.....	32
TABELA 2 - Parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado para seleção prévia de ratos classificados em ansiosos, intermediários e não-ansiosos e posteriormente avaliados no teste de preferência condicionada de lugar.....	33
TABELA 3 - Dosagem sangüínea de etanol, em g/l, 15 min após a administração de etanol, no quarto dia de condicionamento, em ratos.....	38
TABELA 4 - Parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado para seleção prévia de ratos classificados em ansiosos, intermediários e não-ansiosos e posteriormente avaliados no teste de Memória social com ratos jovens nos tempos de 30 e 120 min.....	39
TABELA 5 - Parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado para seleção prévia de ratos classificados em ansiosos, intermediários e não-ansiosos e posteriormente avaliados no teste de atividade locomotora.....	50

## RESUMO

Com a finalidade de examinar a relação entre os níveis basais de ansiedade e alguns dos efeitos do etanol (EtOH), como a ação reforçadora e o efeito sobre a memória social, ratos Wistar foram selecionados e classificados como “ansiosos” (A), “intermediários” (I) e “não-ansiosos” (NA) no labirinto em cruz elevado (LCE) de acordo com procedimento utilizado em estudos prévios (Rogério & Takahashi, 1992). Posteriormente o teste de preferência condicionada de lugar (PCL) foi utilizado para avaliar o efeito reforçador do EtOH nestes animais. Além disso, para os grupos de animais selecionados, o teste de memória social foi utilizado para examinar o envolvimento do processo de memória no teste de PCL. Por outro lado, para avaliar um possível efeito sedativo do EtOH nos testes de PCL e memória social foi realizado o teste da atividade locomotora nestes animais. Animais classificados como ansiosos apresentaram significativo efeito reforçador em diferentes doses de EtOH (0,5; 1,0 e 1,5 g/kg) comparados a ratos condicionados com salina. No teste de memória social, com tempos diferentes de exposição, 30 e 120 min, ratos do grupo “I” reduziram o tempo de investigação social, efeito no sentido de facilitar a memória, sob ação de EtOH. Para o grupo “A” a facilitação foi diferenciada: observou-se aos 30 min, mas não 120 min após a administração do EtOH. O uso de um estímulo novo nesse teste parece ser mais sensível do que o uso do mesmo estímulo, sendo o efeito de facilitação do EtOH detectado em todos os subgrupos de ratos. Além disso, a facilitação da memória induzida pelo EtOH mostra-se dissociada de um possível efeito sedativo do eta-

nol. Em conclusão, o presente estudo sugere que o efeito reforçador do EtOH é somente significativo em ratos "A" e a facilitação da memória induzida pelo EtOH, avaliada no teste de memória social, parece contribuir para as respostas comportamentais no teste de PCL. Os resultados obtidos enfatizam a importância da reatividade emocional basal de ratos para os efeitos comportamentais produzidos pela administração do etanol, porém sugerem que não existe uma correlação direta entre os diferentes experimentos.

## 1- INTRODUÇÃO

O álcool etílico ou etanol constitui-se em um dos mais antigos enigmas farmacológicos e um dos mais sérios problemas de saúde do mundo. Pelo fato de apresentar uma estrutura molecular simples, que consiste de uma cadeia de dois carbonos rodeados por átomos de hidrogênio, com um grupo hidroxila ligado a um deles e conferindo-lhe a propriedade anfótera, o EtOH penetra facilmente, de forma inespecífica, em várias membranas biológicas em nível central e periférico (Lieber, 1992). Até 1960, não se conheciam estruturas celulares específicas para o EtOH, que, uma vez absorvido, por ser solúvel em lipídios, difunde-se por todos os tecidos e fluidos corporais de forma homogênea. Atualmente, trabalhos descritos sobre as ações do EtOH no sistema nervoso central (SNC) passaram a demonstrar a existência de uma seletiva sensibilidade a certos sistemas de neurotransmissores centrais (Nevo & Hamon, 1995).

Por outro lado, o alcoolismo é uma doença complexa, com dimensões psicológicas, sociais e médicas. A etiologia do alcoolismo é multifatorial, e nenhuma causa isolada explica a doença. Biologicamente, consegue-se encontrar uma predisposição genética no indivíduo que parece aumentar o risco de alcoolismo de quatro a cinco vezes; podem, também, ser relacionados distúrbios neuropsíquicos que o antecedem; psicologicamente, tanto alterações estruturais do ego como traços mórbidos de personalidade (depressão,



ansiedade, etc.) têm sido relacionados como antecedentes do alcoolismo (Masur & Monteiro, 1983).

Além disso, vários estudos têm demonstrado que o EtOH, dependendo da dose, exerce efeito estimulante ou depressor em humanos e roedores (Ahienius et al., 1973; Frye & Breese, 1981; Dudek & Abbott, 1984; Masur, Formigoni & Pires, 1989). No entanto relatos da literatura dão ênfase às respostas comportamentais induzidas pelo EtOH, principalmente a propriedade reforçadora e a propriedade ansiolítica em modelos animais (Aston-Jones, Aston-Jones & Koob, 1984; Belzung, Misslin & Vogel, 1988; Stinch-comb, Bowers & Wehner, 1989; Risinger, Dickinson & Cunningham, 1992; Cunningham et al., 1992; Ferreira & Morato, 1996).

As manifestações comportamentais e as alterações afetivas induzidas por drogas psicoativas incluem uma grande variedade de fenômenos. Entre as influências, existem fatores biológicos, psicológicos e sócio-culturais, incluindo a história comportamental e farmacológica de cada indivíduo, que pode modular alguns dos efeitos das drogas como reforço positivo, levando ao abuso e à dependência (Stolerman, 1992; Schuckit et al., 1994).

As bases neurofarmacológicas do reforço, do abuso e da intoxicação induzidas pelo etanol no SNC têm sido estudadas por várias décadas, em ratos, com a utilização de drogas como ferramentas para identificar os mecanis-

mos envolvidos em sua ação (Galanter, 1987; Goldstein, 1983; Klemm, 1990; Rabin et al., 1987; Shefner, 1990).

Recentemente, Nevo & Hamon (1995) demonstraram que o consumo agudo e crônico de EtOH interfere diferentemente nos processos de transmissão no SNC, afetando muitos, se não todos, os sistemas de neurotransmissão conhecidos. Comprovou-se, entretanto, que o principal sistema neurotransmissor inibitório, o ácido gama-amino butírico (GABA), e o principal sistema neurotransmissor excitatório, o glutamato, têm sido envolvidos com as ações centrais do etanol. Sabe-se que o etanol, em administração aguda, facilita a transmissão GABAérgica (aumentando a condutância do cloreto através do receptor GABA<sub>A</sub> e inibe a função glutamatérgica (diminuindo a condutância catiônica através do receptor para o N-metil-D-aspartato - NMDA).

As interações entre o etanol e os sistemas de transmissores monoaminérgicos são mais complexas. Os mecanismos dopaminérgicos, juntamente com o sistema opióide, parecem estar envolvidos com os efeitos reforçadores do etanol, por meio da ativação de vias de reforço positivo. Reforço positivo é reforço causado pela droga, para produzir prazer. Este reforço, causado pela presença de estímulo apetitoso, parece estar relacionado com a liberação de dopamina (DA) no sistema tegmental estriatal. A presença de álcool aumenta os disparos de neurônios dopaminérgicos na área tegmental

ventral (Gessa et al., 1985). Por outro lado, o sistema serotoninérgico (5-HT) atuaria nas vias de reforço negativo.

Vários fatores parecem contribuir para a vulnerabilidade à ingestão de etanol: em particular seu efeito ansiolítico pode constituir uma possível motivação para o consumo. Por exemplo, a hipótese redutora de tensão sugere que indivíduos cronicamente ansiosos ou estressados apresentam uma maior sensibilidade para os efeitos ansiolíticos do EtOH e uma alta predisposição para beber EtOH (Cappell & Herman, 1972; Wilson & Abrams, 1977; Pohorecky, 1981).

A ansiedade constitui em uma das desordens psiquiátricas mais comuns surgidas em consequência da complexidade do mundo e da vida contemporânea. A ansiedade, quando fisiológica, decorre de processos de adaptação do homem a situações estressantes e é extremamente importante para a vida do indivíduo e suas relações interpessoais ou com o meio ambiente, criando condições para sua melhor adaptação a situações novas, que acenem com a possibilidade de risco ou perigo, diminuindo ou evitando as consequências de tal ameaça. As alterações psicofisiológicas que compõem a ansiedade são semelhantes às do medo, podendo-se admitir a identidade básica dos mecanismos neurais que integram ambos os estados emocionais (Graeff, 1989).

A ansiedade patológica manifesta-se por um estado psíquico desagra-

dável de temor, exagerada expectativa, grande tensão e supervigilância, acompanhado de pronunciadas manifestações somáticas neurovegetativas e neuroendócrinas. É, geralmente, induzida por um medo irracional, sem causa aparente, diante de qualquer estressor que ameace imaginariamente a auto-preservação (biopsíquica) do indivíduo ou de sua própria espécie.

A ansiedade persistente ou crônica é caracterizada no indivíduo por uma personalidade ansiosa. As manifestações de ansiedade são persistentes e estão presentes desde a infância, não se conseguindo delimitar seu início, meio e fim. A cronicidade da ansiedade é uma evidência de que não está mais atuando como um sinal de perigo, mas que se tornou ela mesma uma ameaça (Eisendrath & Brophy, 1995).

A ansiedade não é apenas um sintoma importante de muitos distúrbios psiquiátricos, mas também um componente quase inevitável de muitas condições clínicas e cirúrgicas. Na verdade, é uma emoção humana universal, bastante correlacionada ao medo e, muitas vezes, servindo a propósitos de adaptação psicobiológica. O sentimento de medo refere-se às respostas comportamentais neurovegetativas decorrentes de ameaça à integridade física ou à própria sobrevivência do indivíduo, e a ansiedade se manifesta como um estado de apreensão, em circunstâncias onde o perigo não é tão evidente, porém vago e persistente, ou quando os sinais de advertência que provocam o medo não são conscientemente percebidos. Além disso, a ansiedade acom-

panha também a dor, agravando o sofrimento psicológico determinado por ela (Graeff, 1989; Graeff et al., 1993).

Um outro ponto importante a considerar, é a distinção entre traço e estado de ansiedade. Estado de ansiedade é o que o indivíduo sente num momento determinado, sentimento este aumentado pela presença de um estímulo ansiogênico. Traço de ansiedade ou, ansiedade crônica, ao contrário, não varia de momento a momento, sendo considerado como característica constitucional da personalidade de um indivíduo (Brody, 1988).

Existem diferenças constitucionais entre os indivíduos quanto à tendência à ansiedade: as amplas diferenças constatadas na observação da alteração autonômica (neurovegetativa) e outras medidas de temperamento entre recém-nascidos sugerem uma base genética. Ademais, cada indivíduo adulto tem sua própria história de diferentes experiências que poderiam levar a diferentes manifestações emocionais. Os fatores culturais são importantes no estabelecimento da ansiedade: valores recebidos de instituições educativas e religiosas, dispositivos legais e o próprio nível individual de integração sócio-cultural, todos contribuem para a determinação da incidência de culpa e alterações de conduta que visam objetivos mutuamente exclusivos (conflito) e que causam a ansiedade (Solomon & Patch, 1975).

Além disso, sabe-se que, em uma amostra aleatória de seres humanos,

ocorrem níveis variáveis de ansiedade, mas somente uma reduzida minoria por ela é perturbada. Se a ansiedade destes indivíduos difere quantitativa e, também, qualitativamente do restante da população, tal fato demonstra a necessidade de se considerar a ampla variação dos comportamentos apresentada por uma amostra de indivíduos.

É inquestionável a constatação de que os indivíduos normais podem responder diferentemente a situações estressantes, assim como em resposta às drogas. Parece que alterações durante o desempenho de tarefas em humanos, sob influência de drogas, estão relacionadas com a ansiedade traço do sujeito (Jankle et al., 1979). Parrot e Kentridge (1982) demonstraram, em testes de desempenho, que voluntários com baixo traço de ansiedade podem, inclusive, aumentar sua ansiedade com o uso de um benzodiazepínico. Por outro lado, voluntários com traço elevado de ansiedade apresentaram resposta ansiolítica à mesma droga. Confirmando tais relatos, Lister (1990) demonstrou que a eficácia das drogas ansiolíticas não é aparente em uma amostra de voluntários humanos normais, porém está bem evidenciada naqueles clinicamente ansiosos.

A variação de resposta (intensidade e/ou qualidade) comportamental pode ocorrer entre diferentes indivíduos, como também em situações diversas vividas pelo mesmo indivíduo. Diante da importância da variabilidade individual, deve-se considerá-la ao desenvolver estudos em que

se empregam modelos animais. Estudos realizados em animais usualmente utilizam grupos de ratos submetidos a diferentes procedimentos, como, por exemplo, o labirinto em cruz elevado e o condicionamento clássico. Tais estudos investigaram o estado de ansiedade em ratos e constataram que envolve os mesmos substratos neurobiológicos acionados na morbidade de ansiedade humana (Deakin e Graeff, 1991).

Evidências para uma associação entre alcoolismo e ansiedade emergiram de estudos clínicos de pacientes com alcoolismo (Woodruff et al., 1972; Mullaney e Trippett, 1979; Bowen et al., 1984; Smail et al., 1984; Weiss e Rosenberg, 1985; Chambless et al., 1987) e pacientes com desordens de ansiedade (Lader, 1972; Marks e Lader, 1973). Por meio de estudos epidemiológicos, confirmou-se esta associação (Helzer e Pryzbeck, 1988; Regier et al., 1990) e, mais recentemente, outros estudos surgiram a este respeito, relacionando álcool com ansiedade (Wesner, 1990; Cowley, 1992; Stewart et al., 1993; Spanagel et al., 1995).

Schuckit e Hesselbrock (1994), numa revisão da literatura, concluíram que a interação entre o uso de álcool e desordens da ansiedade é complexa. Além disso, evidências experimentais da hipótese redutora de tensão e as altas taxa de comorbidade apresentadas por alguns estudos têm sido relacionadas com diversas desordens de ansiedade e abuso de álcool em estudos clínicos e epidemiológicos (Bibb & Chambless, 1986; George et al., 1990;

Kushner et al., 1990; Schuckit & Hesseibrock, 1994).

Por outro lado, em estudos com animais de laboratório, Stewart e colaboradores (1993) avaliaram a relação entre a ansiedade e o ato de beber etanol em linhagens de ratos que **preferem beber (P)** e **não preferem beber (NP)** etanol. A realização de três diferentes testes comportamentais indicaram que ratos **P** são mais **ansiosos** do que ratos **NP**.

Estudos desenvolvidos por Kosten e colaboradores (1993) demonstraram diferenças genéticas na susceptibilidade para drogas de abuso: ratos **Lewis (LEW)** e **Fischer 344 (F344)** apresentaram diferentes respostas bioquímicas e comportamentais para drogas psicoativas.

Análises posteriores examinaram a relação entre ansiedade e o comportamento de beber EtOH, em ratos Wistar ainda não submetidos a nenhum modelo experimental: os animais foram testados de acordo com seu padrão basal de ansiedade, usando diferentes critérios de seleção para comportamento ansioso, sendo divididos em dois grupos **ansiosos** e **não-ansiosos**. Os animais considerados **ansiosos** apresentavam níveis abaixo de 45% de entrada dentro dos braços abertos e de 30% no tempo gasto nos braços abertos. Para ser classificado como **não-ansiosos** os animais apresentavam níveis acima de 55% para o critério entrada dentro dos braços abertos e acima de 40% para o tempo gasto nos braços abertos. Estes animais foram



subseqüentemente testados num paradigma de voluntariamente beber EtOH (Spanagel et al., 1995).

Harro e colaboradores (1990) e trabalhos prévios realizados neste laboratório (Rogério & Takahashi, 1992) já haviam também constatado diferenças na atividade exploratória de ratos no LCE, refletindo mudanças no seu estado de ansiedade. De acordo com a resposta comportamental no teste do labirinto em cruz elevado, ratos podem ser classificados em animais **ansiosos** e **não-ansiosos**. Ratos **ansiosos** apresentam uma atividade exploratória baixa, e um baixo número de receptores benzodiazepínicos no córtex frontal, comparados com animais **não-ansiosos**.

Além disso, estudos recentes vêm demonstrando que diferenças individuais nos efeitos do etanol podem estar relacionadas às características genéticas e, portanto, vários modelos animais têm sido desenvolvidos utilizando-se a caracterização individual e como são alteradas pelo etanol. Um exemplo deste procedimento, foi demonstrado utilizando-se camundongos Suíços machos expostos ao LCE, sendo caracterizados pelo seus padrões individuais de atividade exploratória e de preferência por um dos braços do aparelho, utilizando-se as seguintes medidas: entradas nos braços abertos (EA), entradas nos braços fechados (EF), total de entradas (TO), tempo nos braços abertos (TA) e tempo nos braços fechados (TF) onde cinco grupos foram caracterizados: **G1, G2, G3, G4 e G5** segundo seu **padrão basal** de resposta ao labirinto

em cruz elevado (Lacerda, 1996).

Deve-se considerar a importância da ampla variação de comportamentos apresentada por uma amostra de indivíduos, pois tal variabilidade poderá vir a fornecer subsídios para a elucidação do fenômeno da ansiedade e da relação entre ansiedade e álcool. A convicção de que o álcool reduz a ansiedade está muito difundida. Seu uso e também o abuso parecem ser reforçados por esta propriedade redutora da ansiedade. A dependência ao álcool em humanos freqüentemente coexiste com desordens de ansiedade (Wilson & Abrams, 1977; Lader, 1972; Regier et al., 1990; Kushner et al., 1990).

A propriedade reforçadora de drogas de abuso como o etanol tem sido o maior fator para comportamento de procura e para um subsequente estado de dependência. Além disso, devido à complexa farmacodinâmica apresentada pelo etanol comparada a outras drogas de abuso, a demonstração do seu efeito reforçador em modelos animais tem sido difícil (Stewart et al., 1996). É importante destacar que as ações ansiolíticas do etanol são importantes para a propriedade reforçadora dessa droga.

O teste de preferência condicionada de lugar (PCL) é um método simples e bastante utilizado para demonstrar as propriedades reforçadoras de diferentes drogas psicoativas em animais (Bozarth, 1987; van der Kooy, 1987;

Hoffman, 1989; Cunningham et al., 1992; Barr et al., 1985; Shoaib et al., 1994; Shippenberg & Heidbreder, 1995). Nesse modelo, o efeito da droga é associado com um estímulo ambiental distinto, e a medida de reforço é obtida pela preferência demonstrada pelo animal por um ambiente, na ausência da droga. Considera-se a droga como tendo propriedade reforçadora, se o animal gastar mais tempo no lugar em que com ela foi pareado do que no ambiente familiar (Bienkowski et al., 1996), enquanto a redução no tempo gasto no lugar pareado com a droga reflete propriedades aversivas (Heyser et al., 1992). Por outro lado, é importante salientar que, no teste de PCL, os efeitos reforçadores são avaliados na ausência da droga, ficando excluídos outros fatores específicos (efeitos motores) e inespecíficos, que poderiam mascarar o desempenho do animal no procedimento (Mithani et al., 1986; Lawley e Kantak, 1990; Calcagnetti e Schechter, 1992 e 1993).

Relatos da literatura dão ênfase à ação reforçadora do EtOH em modelos animais, porém com resultados conflitantes: alguns autores relatam propriedade aversiva (Reid et al., 1985; Stewart et al., 1996) enquanto outros indicam ação reforçadora (Bozarth, 1990). Além disso, a ação reforçadora, no teste de PCL, ocorre com a utilização de baixas doses de EtOH (Asin et al., 1985), ao passo que propriedades aversivas são desenvolvidas com altas doses (> 1,0 g/kg) da droga (Cunningham, 1979; van de Kooy et al., 1983).

Vários autores sugerem que o EtOH induz propriedade reforçadora ou reduz as propriedades aversivas somente quando os ratos já tiveram sido previamente expostos a sua ação (Reid et al., 1985; Gauvin and Holloway, 1991; Holloway et al., 1992). Estudos realizados com ratos em que foram injetados 0,5 g/kg de EtOH, i.p., durante pré-exposição de 20 dias, demonstraram significativa PCL para o compartimento pareado com EtOH. Na dose de 1,0 g/kg não foi constatada propriedade reforçadora, demonstrando que, com o emprego de doses baixas, ocorre sensibilização para a propriedade reforçadora (Bienkowski, 1995).

Bozarth (1990) demonstrou que o etanol induz preferência condicionada de lugar em ratos, após um longo período de condicionamento, necessário para associar os efeitos reforçadores positivos com um compartimento distinto. Estudos recentes realizados por Bienkowski e colaboradores demonstram que, após 5 dias de condicionamento, não se constatou a indução de preferência de lugar pelo EtOH (0,5 e 1,0 g/kg). No entanto, quando os ratos receberam previamente 20 injeções de EtOH, o efeito reforçador se deu naqueles experimentos somente na dose de 0,5 g/kg, e não na dose de 1,0 g/kg (Bienkowski et al., 1996).

O reforço não é um processo unitário, compreende várias funções independentes que podem ser ativadas simultaneamente. A noção de que drogas atuam como reforçadoras não é nova (Wise & Stein, 1970; Crow, 1973; Wise

et al., 1992); nova, porém é a percepção de que as drogas desencadeiam diferentes formas de efeito sobre o comportamento. Um conceito básico é que toda mudança no comportamento envolve o armazenamento de novas informações no sistema nervoso, processo comumente denominado de aprendizagem e memória. Portanto o entendimento do processo de aprendizagem e memória é essencial para a análise de mudanças de comportamento produzidas por drogas de abuso (White, 1996). O tipo de aprendizagem relacionado com reforço foi inicialmente descrito por Pavlov (1927), e a combinação dos processos de reforço e aprendizagem pode produzir respostas comportamentais (White, Messier & Carr, 1987) e internas (Stewart, 1992), na presença do incentivo condicionado, mas também em sua ausência.

O condicionamento de lugar não é somente medida de propriedade reforçadora: resulta de uma complexa interação envolvendo outros fatores, como a aprendizagem e memória, a orientação espacial e a influência de diferentes estímulos sensoriais, como tato e olfato.

A literatura refere-se a diferentes testes para medir a memória, a maioria dos quais, porém, sujeita o animal a estímulos aversivos e estressantes. A adoção de tais testes poderia comprometer o resultado, portanto optou-se, assim, pelo chamado teste de memória social que será aprofundado no decorrer deste estudo. Ressalte-se que, utilizando outros protocolos, o termo interação social tem sido empregado em testes cuja finalidade do estudo foi medir

ansiedade, como os utilizados por File e colaboradores (1980).

O efeito do uso de EtOH sobre a memória, em ratos e em humanos, vem sendo discutido na literatura ao longo dos anos. Define-se como memória a capacidade que um ser vivo tem de emitir uma resposta previamente aprendida, ou reter características de um conjunto de informações sobre eventos passados. Têm sido bem sugerido que memória não é um processo unitário e é importante diferenciar teoricamente memória operacional de memória de longa duração. O processo de formação de memórias pode ser dividido em etapas bem características e com mecanismos neurais que começam a ser compreendidos do ponto de vista fisiológico e bioquímico. Essas etapas que participam da formação de memórias se iniciam com a aquisição de informações que chegam aos sistemas sensoriais sob a forma de estímulos. Logo que processadas, as informações são armazenadas no córtex pré-frontal e parte do giro do cíngulo em uma forma de memória lábil, de capacidade limitada e de curta duração, denominada memória operacional (Izquierdo et al., 1991). A memória operacional refere-se ao sistema cerebral que fornece armazenamento temporário e manipulação da informação necessária para tarefas cognitivas complexas, como compreensão de linguagem, aprendizado e raciocínio. Para que essa informação perdure no cérebro, precisa ser transferida para uma forma mais estável ou consolidada, chamada memória de longa duração (MacGaugh, 1984).

Estudos têm demonstrado que o complexo receptor GABA-benzodiazepinas sofre alterações funcionais em resposta a situações de ansiedade e estresse. O efeito farmacológico das benzodiazepinas sobre a memória provavelmente não se dá devido a uma modulação do conteúdo emocional da tarefa de aprendizagem; mas o fato de memória e ansiedade estarem sujeitos a modulação pelo complexo receptor GABA-benzodiazepinas sugere uma interação anatômica, funcional e temporal desses dois processos. Há indícios de que o etanol também possui efeito sobre estes receptores (De Lory & Olsen, 1994).

Mapeamentos quantitativos da imunorreatividade das substâncias tipo benzodiazepínicos (BZD) em cérebros de ratos com o anticorpo monoclonal 21-7F9, mostram uma distribuição universal do antígeno com mais altos níveis, concentrando-se na camada de células de purkinje do cerebelo, córtex olfatório primário e trato piramidal do hipocampo e na camada de células mitrales do bulbo olfatório. A quantidade de BZDs endógenas em determinadas regiões do cérebro de mamíferos parece estar relacionada aos processos de consolidação da memória. De acordo com essa descoberta, infere-se uma possível influência das BZDs endógenas sobre o processo de consolidação da memória, já que foram encontradas no hipocampo, área envolvida nesse processo. Na amígdala, região cerebral do sistema límbico, existe uma grande concentração de receptores GABA<sub>A</sub>, sendo esta região diretamente envolvida no processo de consolidação da memória de eventos aversivos,

bem como na fisiopatologia da ansiedade. Durante esse processo, a ligação das BZDs em seus receptores dificulta a passagem dos impulsos sinápticos, dificultando, assim, a consolidação da memória (Izquierdo & Medina, 1991).

No presente trabalho, procurou-se estudar os efeitos do etanol na memória social de grupos de animais com diferentes níveis basais de ansiedade no LCE. É importante destacar que, quando os animais exploram os braços abertos do LCE, liberam no sangue hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e glicocorticóides (McEwen & Sapolsky, 1995). Liberam também benzodiazepinas endógenas, apresentando uma correlação direta com os escores de ansiedade do modelo verificado como tempo de permanência nos braços abertos do labirinto (Da Cunha et al., 1992). Este fato foi comprovado em animais experimentais, quando o bloqueio das benzodiazepinas endógenas liberadas na amígdala durante uma sessão de exploração de um labirinto em cruz elevado diminuiu a exploração dos braços abertos do labirinto pelos animais. Além disso, Harro e colaboradores (1990) já haviam demonstrado que, dependendo da reatividade basal dos animais (ansiosos e não-ansiosos), diferia o número de receptores benzodiazepínicos no córtex cerebral.

Os resultados da observação do efeito do etanol na memória são conflitantes, enquanto alguns enfocam prejuízos resultantes de seu uso (Birnbaum & Parker, 1977; Castellano e Populin, 1990; Majewska, 1990), outros relatam vantagens advindas de seu efeito (Alkana & Parker, 1979; Lamberty et al.,



1990; Parker et al., 1980). Além disso, é importante considerar os efeitos do etanol nos diferentes estágios em que está acontecendo o processo de memória, isto é, a mesma dose de álcool (1g/kg), quando administrada antes do aprendizado, prejudica a memória (Parjer et al., 1976); facilita a memória quando administrada logo após a aquisição; e não apresenta efeito quando administrada no tempo de evocação (Birnbaum et al., 1978).

A formação de novas memórias é significativamente prejudicada por doses agudas de álcool, porém mantém intacta a capacidade para relembrar memórias antigas (Hartley et al., 1978; Miller et al., 1978). A literatura sugere com freqüência que o álcool pode interferir na consolidação de traços de memória. Fisiologicamente, as memórias são causadas por alterações da capacidade de transmissão sináptica de um neurônio para outro, resultante de atividade neural prévia. Essas alterações, por sua vez, causam o desenvolvimento de novas vias para a transmissão de sinais pelos circuitos neurais do cérebro. As novas vias são denominadas traços de memória.

Conceitualmente, o efeito do álcool na formação de novas memórias se apresenta diferentemente da Aprendizagem dependente de estado. Aprendizagem dependente de estado é aquela que se observa quando o aprendizado inicial e a evocação ocorrem no mesmo estado (Overton, 1972).

Como já mencionado, vários testes comportamentais têm sido utilizados

para investigar os processos de aprendizagem e memória em ratos. Dentre eles, o teste de interação social, investigação social ou memória social, que é um modelo etológico e simples. Foi introduzido inicialmente por Thor & Holloway (1982) e, posteriormente, revisado pelo laboratório de Dantzer e colaboradores (1987), sendo baseado nas características discriminativas olfativas do estímulo animal, isto é, baseia-se no tempo de cheirar um outro animal da mesma espécie. (Sawyer et al., 1984).

No teste de investigação social, a medida do tempo de duração da investigação em duas sucessivas exposições a animais jovens, de 4 a 5 minutos cada, é caracterizada como índice de memória. O intervalo entre a primeira e a segunda exposição não deve ser superior a 40 minutos, situação em que ratos adultos machos, de várias espécies, apresentam uma significativa redução no tempo de investigação durante a segunda exposição (Dantzer et al., 1987; Engelmann & Landgraf, 1994; Hlinák & Krejčí, 1991; Ploeger et al., 1991; Popik & Vetulani, 1991, Sekiguchi et al., 1991 a-b, Engelmann et al., 1995). Por outro lado, após duas horas da exposição inicial, quando ratos jovens foram novamente expostos ao mesmo rato adulto macho, esses animais apresentaram tempo de investigação similar ao obtido na exposição inicial (Dantzer et al., 1987; Engelmann et al., 1995). Vale ressaltar que o tempo de investigação somente diminuiu na segunda exposição quando o mesmo animal jovem foi recolocado. Caso contrário, quando um novo estímulo jovem aparecia, o tempo de investigação para este animal não diferia significativamente da

primeira exposição.

É importante salientar que neuropeptídeos hipofisários foram testados no teste de investigação social. Os resultados obtidos demonstraram que a administração da enzima vasopressina (AVP) em ratos facilita a memória social sendo essa resposta bloqueada pela administração de um antagonista específico de receptores vasopressores de AVP, dPyr(Me)AVP (Dantzer et al., 1987). Posteriormente foi demonstrado que a investigação social foi estudada em camundongos machos DBA2 e os resultados confirmam que a transmissão vasopressinérgica modula o teste de investigação social em camundongos (Bluthé et al., 1993).

Resultados obtidos da literatura com procedimentos utilizando estímulos olfativos e reconhecimento de objetos que apresentavam odor familiar e outros com odor não-familiar, indicam que ratos são capazes de discriminar entre os elementos e os pares de estímulos (Carr et al., 1976; Carr et al., 1980; Ennaceur & Delacour, 1988; Fass et al., 1978; Hopp et al., 1985). De acordo com esses resultados, Engelmann e colaboradores (1995), em estudos posteriores, em procedimentos separados e na mesma sessão de testes, sugeriram que ratos machos adultos também são capazes de discriminar entre um jovem familiar e um não-familiar. Outros fatores que devem ser mencionados é a experiência sexual e o sexo dos sujeitos experimentais, que parece ser importante para detectar a investigação juvenil (Thor & Holloway, 1981; Engelmann

et al., 1995).

As modificações comportamentais determinadas pelos efeitos agudos do álcool sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) são proporcionais à concentração sanguínea dessa droga. Além da concentração sanguínea deve-se considerar a velocidade de elevação dos níveis e do tempo em que são mantidos na corrente circulatória. Sabe-se que o etanol é absorvido rápida e completamente através do tubo gastrointestinal e é detectado no sangue minutos após a ingestão. Muitos fatores modificam a absorção gastrointestinal, entre eles a alimentação, a velocidade de ingestão, a concentração e o volume de EtOH, além de variações na motilidade gastrointestinal. A cinética do etanol está condicionada à absorção gástrica, com os fatores que a modificam, e ao estado metabólico do organismo, como a tolerância pelo uso crônico.

Frente ao exposto, pode-se observar que, embora existam evidências, poucos são os dados publicados relacionando o nível basal de ansiedade em animais e a investigação dos efeitos comportamentais induzidos pelo EtOH, no teste de preferência condicionada de lugar e de memória social. O presente estudo foi, por essa razão, delineado com o objetivo de investigar os efeitos do EtOH em ratos previamente selecionados no LCE e, posteriormente, avaliados em diferentes testes comportamentais. Paralelamente a estas investigações, foi avaliada a concentração sanguínea após administração de etanol.

## 2- OBJETIVOS

A partir da seleção ratos em grupos, como **ansiosos, intermediários e não-ansiosos**, de acordo com seu desempenho no labirinto em cruz elevado, o presente estudo pretende:

- Avaliar a relação entre ansiedade e os efeitos reforçadores do EtOH, no teste de preferência condicionada de lugar. Dosar a concentração plasmática após administração intraperitoneal de EtOH, seguindo o mesmo procedimento de injeção de PCL.
- Avaliar os efeitos do EtOH na memória social, utilizando um único ou diferentes estímulos olfativos em dois intervalos de tempo. Dissociar o efeito motor da medida de memória.

## **3- MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos Wistar (procedentes do biotério da UFSC), do sexo masculino, com idades de 1 mês e de 3 meses, pesando respectivamente, entre 100 e 150 gramas e entre 250 e 370 gramas, e experimentalmente ingênuos. Os animais foram mantidos em temperatura constante ( $23^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), em ciclo de claro e escuro de 12 horas, com livre acesso a água e comida.

Os animais foram selecionados no labirinto em cruz elevado, e após o período de uma semana foram submetidos ao teste de preferência condicionada de lugar. Para o teste de memória social, os animais selecionados foram isolados durante duas semanas e expostos ao teste de memória social.

### **3.2 Drogas e reagentes**

- EtOH (Merck), diluído a 10% v/v em salina, e administrado por via intraperitoneal (i.p.), nas doses de 0,5, 1,0 e 1,5 g/kg. O volume de injeção do EtOH variou conforme a dose utilizada.

- Sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético (E.D.T.A) - LABTEST
- Ácido Sulfúrico -LABORATÓRIO REAGEN
- Ácido pícrico -LABORATÓRIO VETEC -Química Fina Ltda
- Bicromato de potássio - LABORATÓRIO VETEC -Química Fina Ltda

### **3.3 APARELHO E PROCEDIMENTO**

#### **3.3.1 Teste do labirinto em cruz elevado - LCE**

O labirinto em cruz elevado, feito em madeira, consiste de dois braços abertos (50 x 10 cm) e dois braços fechados (50 x 10 x 40 cm). Os braços estendem-se a partir da plataforma central (10 x 10 cm). O aparelho está elevado a 50 cm do chão. Os braços fechados foram pintados de preto. Com a finalidade de determinar a atividade exploratória em ratos, cada braço aberto foi dividido, com uma fita adesiva, em três setores iguais.

O experimento foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Harro et al. (1990) e estudos prévios desenvolvidos neste laboratório (Rogério

e Takahashi, 1992). Cada rato foi colocado no centro do labirinto durante um período de 5 minutos em que foram registrados: tempo de permanência nos braços abertos e fechados, período de latência da primeira entrada para o braço aberto e o número de cruzamentos dos setores dentro dos braços abertos. Considerou-se que o animal estava nos braços abertos somente quando colocava as quatro patas dentro de um dos braços.

Foi utilizada uma solução de etanol a 10%, para limpar o aparelho antes da colocação de cada animal, com o objetivo de eliminar odores que pudessem interferir no comportamento.

### **3.3.2 Teste de preferência condicionada de lugar - PCL**

O teste de PCL foi efetuado em uma caixa de acrílico, composta de dois compartimentos diferentes, medindo 30 x 30 x 22 cm (comprimento x largura x altura), separados por uma guilhotina removível. O compartimento claro tinha o piso com grade (1 cm entre as barras), iluminado com luz branca, e o compartimento escuro, o piso liso e sem iluminação. Os experimentos foram conduzidos em ambiente com pouca iluminação, no período da manhã (8 - 12 h). O método escolhido envolveu duas fases: Condicionamento e teste.



## Fase 1: Condicionamento

O período de condicionamento foi efetuado em quatro dias consecutivos, com um ensaio diário. Os animais recebiam de forma alternada solução controle (salina), nos dias ímpares, e EtOH 0,5; 1,0 ou 1,5 g/kg, nos dias pares. Cada animal permanecia na caixa de condicionamento por um período de 15 minutos. Nos dias ímpares, os animais foram confinados no lado escuro da caixa de condicionamento e, nos dias pares na extremidade oposta, o lado claro da caixa.

## Fase 2 : Teste

O teste foi efetuado sem aplicação da droga, no 5º dia de condicionamento por um período de 15 minutos: os animais foram individualmente colocados no centro da caixa, com livre acesso para os dois lados da caixa, registrando-se o tempo de permanência de cada animal nos compartimentos claro e escuro.

Utilizou-se uma solução de etanol, a 10%, para limpar a caixa, antes da colocação de cada animal.

Para um melhor entendimento do procedimento utilizado para avaliar o efeito reforçador do etanol, segue o esquema a seguir:

GRUPOS*	CONDICIONAMENTO ( 4 DIAS)	TEMPO DE CONDICIONAMENTO	LADO DA CAIXA	TESTE 5º DIA
CONTROLE	1º e 3º dia: Injeção salina	15 min	escuro	15 min
	2º e 4º dia: injeção salina	15 min	claro	15 min
EtOH 0,5 g/Kg	1º e 3º dia: injeção salina	15 min	escuro	15 min
	2º e 4º dia: injeção EtOH	15 min	claro	15 min
EtOH 1,0 g/Kg	1º e 3º dia: injeção salina	15 min	escuro	15 min
	2º e 4º dia: injeção EtOH	15 min	claro	15 min
EtOH 1,5 g/Kg	1º e 3º dia: injeção salina	15 min	escuro	15 min
	2º e 4º dia: injeção EtOH	15 min	claro	15 min
<b>Grupos* Ansiosos, Intermediários e Não-ansiosos</b>				

### 3.3.3 Teste de memória social

Após a seleção prévia no LCE (em **ansiosos, intermediários e não-ansiosos**) e o isolamento dos animais por um período de duas semanas, sem privação de água e comida, o experimento foi realizado, de acordo com o procedimento descrito por Dantzer et al. (1987). O teste foi efetuado registrando-se o tempo de investigação (principalmente o ato de cheirar um outro animal da mesma espécie) do animal adulto, em relação ao mesmo animal jovem e a diferentes animais jovens, em diferentes tempos: 0, 30 e 120 minutos. Os animais foram observados numa gaiola com grade não familiar aos animais. Após

a exposição inicial por um período de 5 minutos, cada animal recebia, por via i.p., solução controle e EtOH nas doses de 0,5; 1,0 e 1,5 g/kg, sendo, posteriormente, reavaliada sua investigação social, nos tempos de 30 e de 120 minutos.

### 3.3.4 Teste de movimentação espontânea

A avaliação da atividade locomotora foi realizada em uma caixa de madeira medindo 73 x 30 x 22 cm, com três células fotoelétricas instaladas a 3cm de altura do chão em grade, espaçadas igualmente ao longo de sua extensão e acopladas a um contador digital que registra o número de vezes que o animal interrompe os feixes de luz (cada interrupção do feixe de luz constitui uma medida de atividade). Assim, somente os movimentos horizontais dos animais foram detectados pelas fotocélulas. O teste foi realizado em ambiente com pouca iluminação, no período matutino (8h às 12h). Neste experimento, os animais selecionados no LCE como **ansiosos**, **intermediários** e **não-ansiosos** foram individualmente colocados dentro das caixas de movimentação e os registros de medida de atividade foram efetuados por um período de 5 minutos em diferentes intervalos de tempo (aos 10, 30 e 120 minutos) após as injeções de solução controle e EtOH (0,5; 1,0 e 1,5 g/kg). Após cada registro de atividade, os animais retornavam à gaiola-casa.

### **3.3.5 Dosagem plasmática do EtOH**

Um grupo de animais testados no mesmo procedimento de injeção do teste de PCL foi utilizado para a dosagem plasmática do EtOH. Após anestesia com éter, retirou-se por punção cardíaca o sangue de cada animal. O sangue retirado foi colocado em um tubo contendo anticoagulante E.D.T.A., para obter sangue total. A obtenção de sangue total teve como objetivo determinar o nível sanguíneo do etanol em ratos, após 15 minutos de administração intraperitoneal, utilizando o método de Nicloux.

## **4- ANÁLISE ESTATÍSTICA**

As comparações estatísticas entre as médias dos grupos foram inicialmente realizadas por análise de variância (ANOVA) de uma via ou duas vias, com medidas repetidas, adequadas ao protocolo experimental. Posteriormente, os grupos foram comparados entre si empregando-se o teste de Newman-Keuls. Os dados foram expressos como a média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.). A probabilidade aceita como indicativa da existência de diferenças estatisticamente significantes foi  $p \leq 0.05$ .

## 5- RESULTADOS

### 5.1 Seleção de ratos em grupos de animais ansiosos, intermediários e não-ansiosos no labirinto em cruz elevado: influência do padrão comportamental basal.

Foram submetidos ao LCE aproximadamente 750 animais. Para a caracterização da amostra geral, assim como para o cálculo das médias, erro padrão da média e limites superiores e inferiores adotados para a classificação foram utilizados 396 ratos que foram distribuídos pelos experimentos de PCL, memória social e atividade locomotora. A partir da média geral dessas medidas e  $\pm 3$  e.p.m. cada animal foi classificado de acordo com seus valores individuais. Para a caracterização da amostra geral uma análise fatorial das variáveis foi realizada. Os limites utilizados para a classificação eram superiores ou inferiores à média  $\pm 3$  e.p.m. da respectiva medida.

Os ratos foram selecionados segundo os resultados apresentados e a seguir descritos: foram classificados como **ansiosos** aqueles que apresentavam um baixo número de cruzamentos ( $<12$ ), combinado com uma baixa permanência nos braços abertos ( $<80$ s) e acentuada latência de entrada para os braços abertos ( $>40$ s). Os animais classificados como **não-ansiosos** apresentaram resultados opostos aos dos ansiosos: um alto número de cruzamentos

nos braços abertos (>19), permaneciam durante um longo período de tempo nos braços abertos do labirinto comparado com o tempo total do experimento (>105 s) e exibiram uma curta latência de entrada dos braços abertos (<10s). Tais resultados sugerem que os animais do grupo selecionado como **não-ansiosos** apresentam pouca aversão aos espaços abertos no L.C.E. Os animais cujas respostas oscilavam entre os grupos ansiosos e não-ansiosos, 13 a 18 cruzamentos, entre 80 e 105 segundos de permanência e com latência de entrada para o braço aberto entre 7 e 15 segundos foram considerados **intermediários**. Vale ressaltar que a frequência de ocorrência dos grupos selecionados foi maior para os grupos intermediários (312 animais) e não-ansiosos (247 animais) do que para o grupo ansiosos (191 animais).

Após a seleção e separação em grupos já definidos como **ansiosos**, **intermediários** e **não-ansiosos**, de acordo com os variáveis: latência para os braços abertos, cruzamento e tempo gasto nos braços abertos, quando analisados pela ANOVA de uma via, revelou diferenças estatísticas entre os grupos [ $F_{2,1188} = 418,37$ ,  $p < 0,0001$ ]. Em seguida, os resultados foram analisados através do teste de Newman-Keuls, que revelou diferenças entre os grupos **ansiosos**, **intermediários** e **não-ansiosos**, para as variáveis: latência de entrada para os braços abertos [ $F_{2,396} = 3.876$ ,  $p = 0.03$ ], cruzamento nos braços abertos [ $F_{2,396} = 78.452$ ,  $p < 0.0001$ ] e tempo gasto nos braços abertos [ $F_{2,396} = 27.789$ ,  $p < 0.001$ ]. Os resultados gerais da seleção de ratos estão demonstrados na Tabela 1.

**Tabela 1- Parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado para a seleção prévia de ratos classificados como ansiosos, intermediários e não-ansiosos. Os dados representam a média  $\pm$  e.p.m dos grupos.**

	Latência de entrada no braço aberto (s)	Número de cruzamentos nos braços abertos	Tempo total gasto nos braços abertos (s)	Número de Ratos Wistar
Geral	23,7 $\pm$ 2,4	16,7 $\pm$ 0,6	95,0 $\pm$ 4,8	396
Não-ansiosos	9,7 $\pm$ 1,7 •	27,1 $\pm$ 1,0*•	135,8 $\pm$ 6,4*•	132
Intermediários	11,0 $\pm$ 1,8 •	16,0 $\pm$ 0,3 •	93,6 $\pm$ 4,1 •	132
Ansiosos	50,5 $\pm$ 13,0*	6,8 $\pm$ 0,6*	55,7 $\pm$ 4,3*	132

\* Diferença significativa em relação ao grupo Intermediário,  $p \leq 0,05$ . • Diferença significativa em relação ao grupo Ansioso,  $p \leq 0,05$ .

## 5.2 Influência do etanol no teste de preferência condicionada de lugar (PCL), em ratos previamente selecionados no LCE.

A tabela 2 mostra o padrão basal de ansiedade dos animais classificando-os em animais **ansiosos**, **intermediários** e **não-ansiosos** utilizados neste experimento, replicando os dados obtidos no experimento anterior.

**Tabela 2- Parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado para a seleção prévia de ratos classificados como ansiosos, intermediários e não-ansiosos e posteriormente avaliados no teste de preferência condicionada de lugar. Os dados representam a média  $\pm$  e.p.m. dos grupos.**

	Latência de entrada no braço aberto (s)	Número de cruzamentos nos braços abertos	Tempo total gasto nos braços abertos (s)	Número de Ratos Wistar
Geral	27,1 $\pm$ 5,7	15,9 $\pm$ 0,8	91,7 $\pm$ 4,3	120
Não-ansiosos	6,5 $\pm$ 1,2 •	25,9 $\pm$ 0,8 *•	139,1 $\pm$ 4,9 *•	40
Intermediários	9,3 $\pm$ 1,3 •	15,8 $\pm$ 0,3 •	93,8 $\pm$ 4,6 •	40
Ansiosos	65,7 $\pm$ 14,6 *	6,0 $\pm$ 0,6*	42,3 $\pm$ 3,5 *	40

\* Diferença significativa em relação ao grupo Intermediário,  $p < 0,05$ . • Diferença significativa em relação ao grupo Ansioso,  $p \leq 0,05$ .

Conforme já descrito nos procedimentos, os animais foram condicionados, durante 4 dias consecutivos, com um ensaio diário, e a avaliação do



efeito reforçador foi realizada no 5º dia, na ausência do tratamento, fazendo-se o registro do tempo de permanência nos compartimentos da caixa de condicionamento.

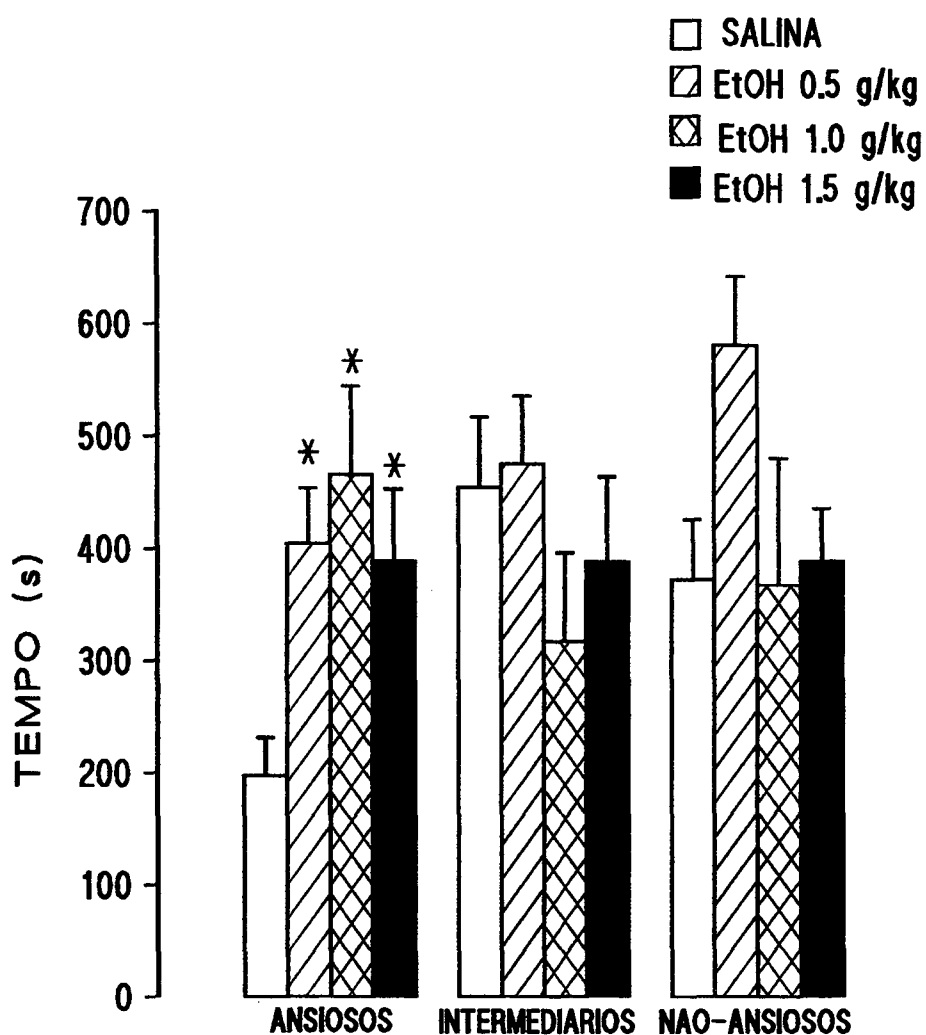
Os efeitos das diferentes doses de EtOH sobre o teste de preferência condicionada de lugar, em ratos previamente selecionados no LCE, estão ilustrados na Figura 1.

A Figura 1 apresenta a média  $\pm$  e.p.m. do tempo de permanência no compartimento menos preferido (lado claro) no teste de PCL, após a administração intraperitoneal de solução controle e EtOH (0,5; 1,0 e 1,5 g/Kg). Os resultados foram analisados com o emprego da ANOVA de uma via e, posteriormente, analisados com o teste de Newman-Keuls. Como pode ser visto, os resultados obtidos com animais condicionados durante 4 dias no teste de preferência de lugar indicam que todas as doses de EtOH induziram aumentos significantes no tempo de permanência no lado claro da caixa, em relação ao grupo controle, para o grupo de animais considerados **ansiosos** [ $F_{3,53} = 5.89$ ,  $p = 0.0016$ ].

Os animais selecionados como **intermediários e não-ansiosos** no LCE não apresentaram efeito reforçador no teste de PCL [ $F_{3,41} = 1.021$ ,  $p = 0.394$ ;  $F_{3,43} = 1.959$ ,  $p = 0.135$ , respectivamente]. Além disso, vale ressaltar que, para os **mesmos animais**, o EtOH não induziu propriedades aversivas, neste pro-

cedimento, conforme Figura 1.

Apesar da ANOVA não revelar diferença significativa entre os tratamentos para o grupo não-ansioso, observa-se que o efeito reforçador do EtOH 0,5 g/Kg para o grupo de animais **não-ansiosos** apresentou valores semelhantes àqueles alcançados pelos animais **ansiosos** tratados com diferentes doses de EtOH.



**Figura 1: Tempo de permanência de ratos ansiosos, intermediários e não-ansiosos no compartimento pareado com a droga, na caixa de preferência condicionada de lugar, após 4 dias consecutivos de condicionamento. Os valores representam a média  $\pm$  epm de 10 animais por grupo. \* Indica  $p \leq 0,05$  em relação ao grupo controle (ANOVA - Newman-Keuls).**

### **5.3 Determinação do nível sanguíneo de etanol em ratos submetidos ao teste de PCL.**

Os níveis plasmáticos do etanol (0,5; 1,0 e 1,5 g/Kg) foram analisados em animais submetidos ao mesmo procedimento de injeção descrito no teste de PCL. No quarto dia, após os 15 minutos de condicionamento, foi coletado o sangue dos animais ansiosos, intermediários e não-ansiosos por punção cardíaca e colocado em tubos contendo E.D.T.A, para obtenção de sangue total. Níveis sanguíneos de etanol foram determinados em ratos ansiosos, intermediários e não-ansiosos, após 15 minutos da injeção de etanol. A dosagem foi feita por um sistema automatizado Dosimat, conforme descrito anteriormente nos procedimentos.

Na Tabela 3, pode-se observar a média  $\pm$  e.p.m. do nível plasmático de diferentes doses, após 15 min da administração i.p. de EtOH em ratos selecionados no LCE em ansiosos, intermediários e não-ansiosos. A análise estatística realizada pela ANOVA de uma via revelou diferenças significantes entre os diferentes níveis sanguíneos de etanol após administração de doses crescentes de EtOH [  $F_{3,38} = 113.68$ ,  $p < 0.0001$ ]. Além disso, verificou-se pelos resultados obtidos que o nível sanguíneo de etanol foi dependente da dose de etanol administrada, porém não ocorreu diferença estatística entre os grupos classificados no LCE, como está demonstrado na Tabela 3.

**Tabela 3: Dosagem plasmática de EtOH, em g/l, 15 minutos após a administração de EtOH, no quarto dia de condicionamento, em ratos classificados no LCE como ansiosos, intermediários e não-ansiosos. Os dados representam a média  $\pm$  e.p.m.**

Grupos:	Dosagem de EtOH em g/l			
	Controle	EtOH 0,5 g/kg	EtOH 1,0 g/kg	EtOH 1,5 g/kg
Não-ansiosos	Ausente	0,69 $\pm$ 0,02 *	1,44 $\pm$ 0,03 *	2,15 $\pm$ 0,05 *
Intermediários	Ausente	0,70 $\pm$ 0,04 *	1,59 $\pm$ 0,02 *	1,79 $\pm$ 0,04 *
Ansiosos	Ausente	0,98 $\pm$ 0,02 *	1,69 $\pm$ 0,02 *	1,89 $\pm$ 0,03 *

\* Diferença significativa em relação ao grupo Controle,  $p \leq 0,05$ .

#### 5.4 Avaliação da influência do etanol na memória social, utilizando um único estímulo olfativo, em ratos previamente selecionados no LCE.

A tabela 4 mostra o padrão basal de ansiedade dos animais classificando-os em animais **ansiosos**, **intermediários** e **não-ansiosos** utilizados neste experimento, replicando os dados obtidos no experimento anterior

**Tabela 4- Parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado para a seleção prévia de ratos classificados como ansiosos, intermediários e não-ansiosos e posteriormente avaliados no teste de Memória social com ratos jovens nos tempos de 30 minutos e 120 minutos.**

	Latência de entrada no braço aberto (s)	Número de cruzamentos nos braços abertos	Tempo total gasto nos braços abertos (s)	Número de Ratos Wistar
Geral	22,05 ± 8,2	17,0 ± 0,66	96,6 ± 5,21	216
Não-ansiosos	11,4 ± 3,0 •	27,8 ± 1,2 *•	134,2 ± 7,1*•	72
Intermediários	11,9 ± 2,1 •	16,2 ± 0,2 •	93,5 ± 3,8 •	72
Ansiosos	42,9 ± 12,2*	7,2 ± 0,6*	62,4 ± 4,7*	72

\* Diferença significativa em relação ao grupo Intermediário,  $p \leq 0,05$ . • Diferença significativa em relação ao grupo Ansioso,  $p \leq 0,05$ .

Após a seleção prévia no LCE, Tabela 4, e o isolamento dos animais por um período de duas semanas, o experimento foi realizado de acordo com

o procedimento descrito por Dantzer e colaboradores (1987). O teste foi efetuado registrando-se o tempo de investigação (principalmente o ato de cheirar) do animal adulto em relação ao mesmo animal jovem. Após a exposição inicial, tempo 0, cada animal recebia, pela via de administração intraperitoneal, solução controle ou EtOH, nas doses de 0,5; 1,0 e 1,5 g/kg, sendo, posteriormente, reavaliada sua investigação social, nos tempos de 30 e de 120 minutos.

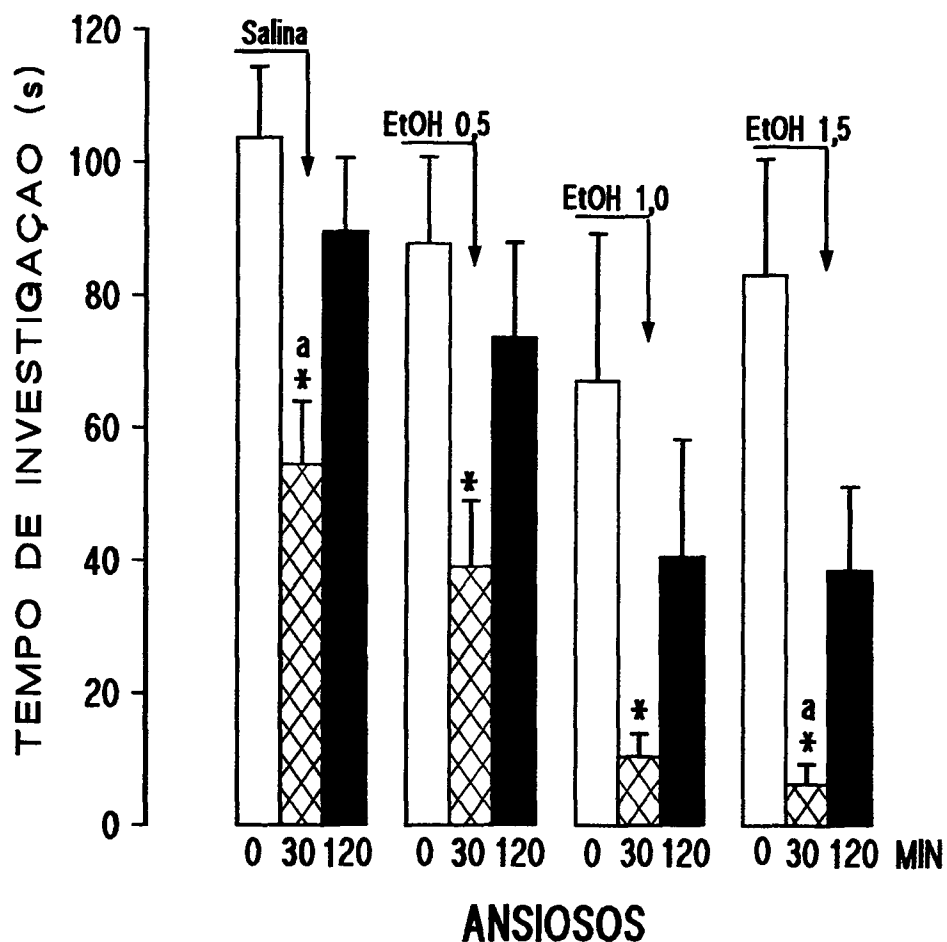
Os resultados da média  $\pm$  e.p.m. do tempo de investigação dos animais **ansiosos, intermediários e não-ansiosos**, tratados com salina e EtOH (0,5; 1,0 e 1,5 g/kg), estão ilustrados nas Figuras 2, 3 e 4. A análise estatística efetuada pela ANOVA de duas vias, com medidas repetidas, demonstrou interação significativa entre tratamento e tempo para o grupo **ansioso** [ $F_{3,27} = 4.668$ ,  $p < 0.004$ ;  $F_{2,54} = 33.623$ ,  $p < 0.001$ ] e foi significativa somente para o tempo para os **grupos intermediário** [ $F_{3,22} = 2.663$ ,  $p = 0.716$ ;  $F_{2,44} = 21.028$ ,  $p < 0.001$ ] e **não-ansioso** [ $F_{3,25} = 0.595$ ,  $p = 0.669$ ;  $F_{2,50} = 51.783$ ,  $p < 0.001$ ].

No teste de investigação social, segundo Dantzer, quando animais adultos são reexpostos após 30 minutos da exposição inicial ao mesmo rato jovem, gastam menos tempo de investigação social do que haviam gasto na primeira exposição. Por outro lado, expostos após 120 minutos, os mesmos animais gastam um tempo aproximado ao registrado na exposição inicial.

Os resultados do presente estudo mostram que com tempos diferentes

de exposição, 30 e 120 min, ao mesmo estímulo olfativo, ratos classificados como **intermediários**, reduziram de forma significativa a investigação social, efeito indicativo de facilitação da memória, sob ação de etanol nesse modelo, Figuras 3. Para o grupo **ansioso**, a facilitação foi diferenciada: observou-se aos 30 min, mas não 120 min após a administração de EtOH (Figura 2).

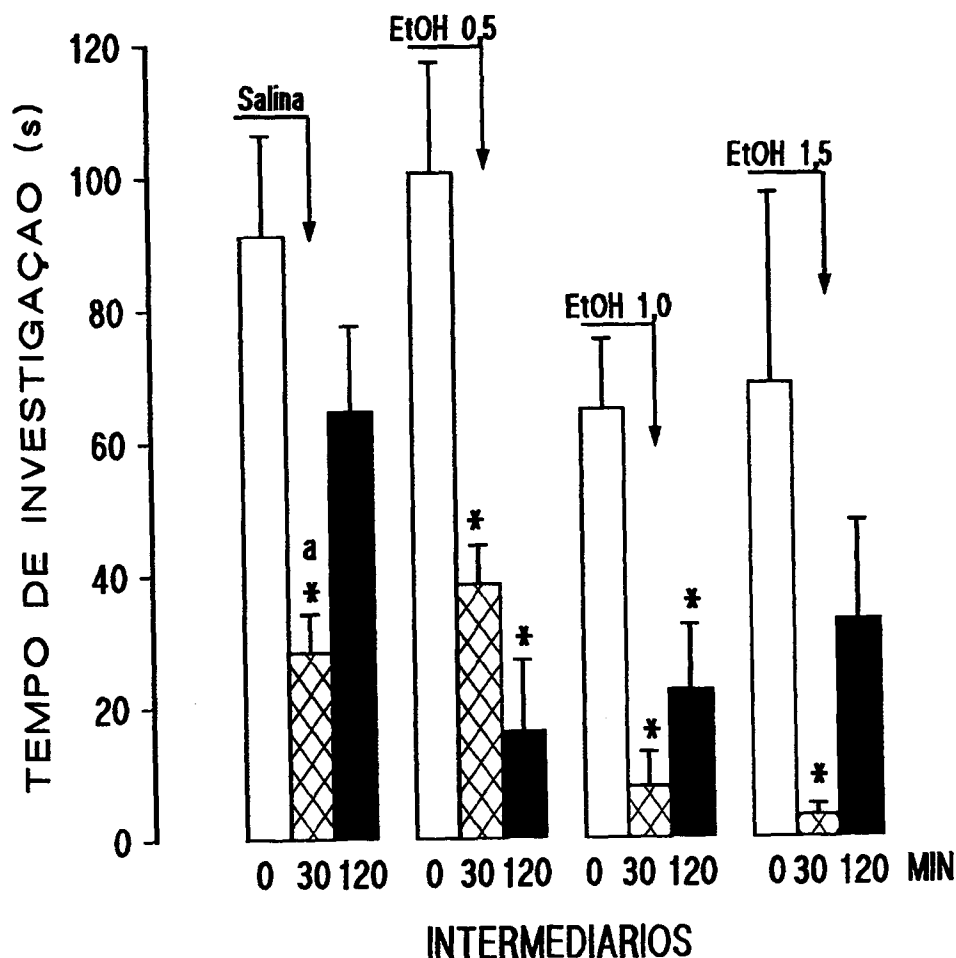




**Figura 2: Tempo de investigação social de ratos adultos ansiosos, junto ao mesmo rato jovem, aos 30 e 120 minutos. O EtOH (0,5, 1,0 e 1,5 g/kg) foi injetado no rato adulto imediatamente após a exposição inicial (tempo 0). Os resultados representam a média  $\pm$  e.p.m.**

**\*  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 0 do respectivo grupo.**

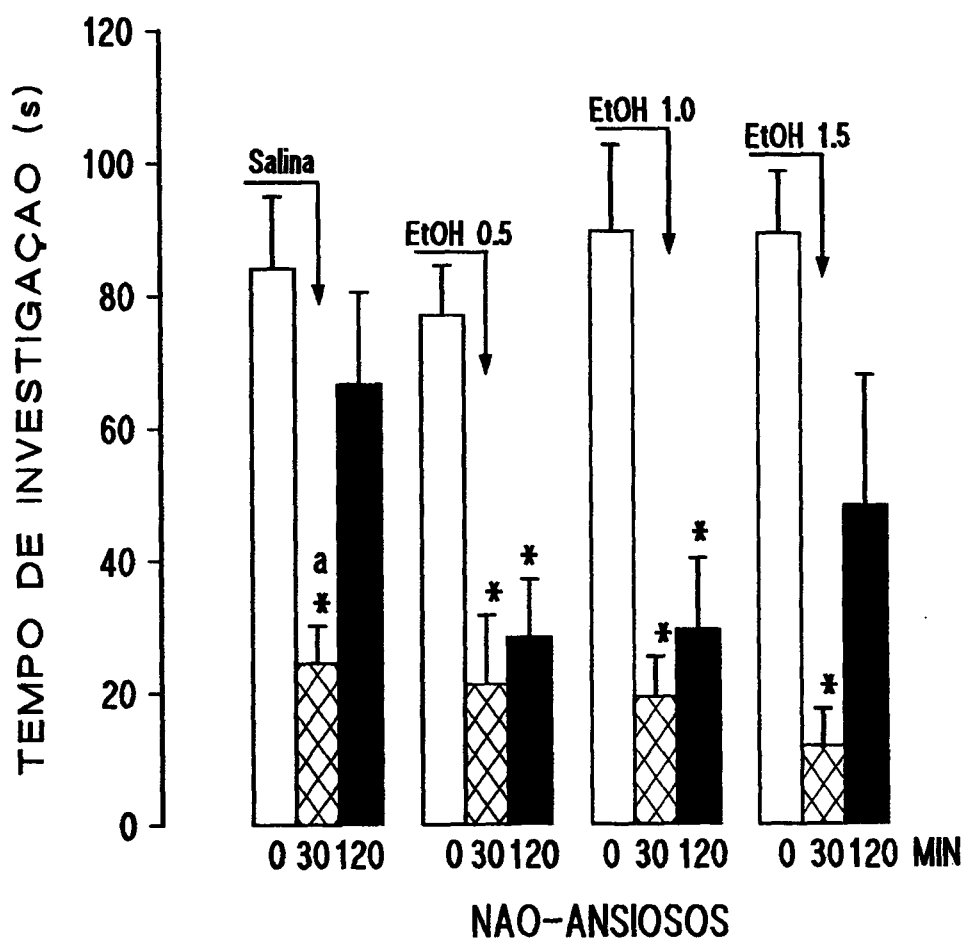
**<sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 120 do respectivo grupo.**



**Figura 3: Tempo de investigação social de ratos adultos intermediários, junto ao mesmo rato jovem, aos 30 e 120 minutos. O EtOH (0,5, 1,0 e 1,5 g/kg) foi injetado no rato adulto, imediatamente após a exposição inicial (tempo 0). Os resultados representam a média  $\pm$  e.p.m.**

**\*  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 0 do respectivo grupo.**

**<sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 120 do respectivo grupo.**



**Figura 4: Tempo de investigação social de ratos adultos não-ansiosos, junto ao mesmo rato jovem, aos 30 e 120 minutos. O EtOH (0,5, 1,0 e 1,5 g/kg) foi injetado no rato adulto, imediatamente após a exposição inicial (tempo 0). Os resultados representam a média  $\pm$  e.p.m.**

**\*  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 0 do respectivo grupo.**

**<sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 120 do respectivo grupo.**

## **5.5 Avaliação da influência do etanoi na memória social, utilizando estímulos olfativos diferentes, em ratos previamente selecionados no LCE.**

Os resultados da média  $\pm$  e.p.m. dos tempos da investigação social durante as diferentes exposições de tempo dos ratos jovens estão ilustradas nas figuras 4, 5 e 6. Cada grupo foi testado com solução controle (salina) e tratamento (EtOH nas doses de 0,5; 1,0 e 1,5 g/kg), via i.p., para a avaliação da memória social, seguindo o procedimento descrito por Dantzer e colaboradores (1987).

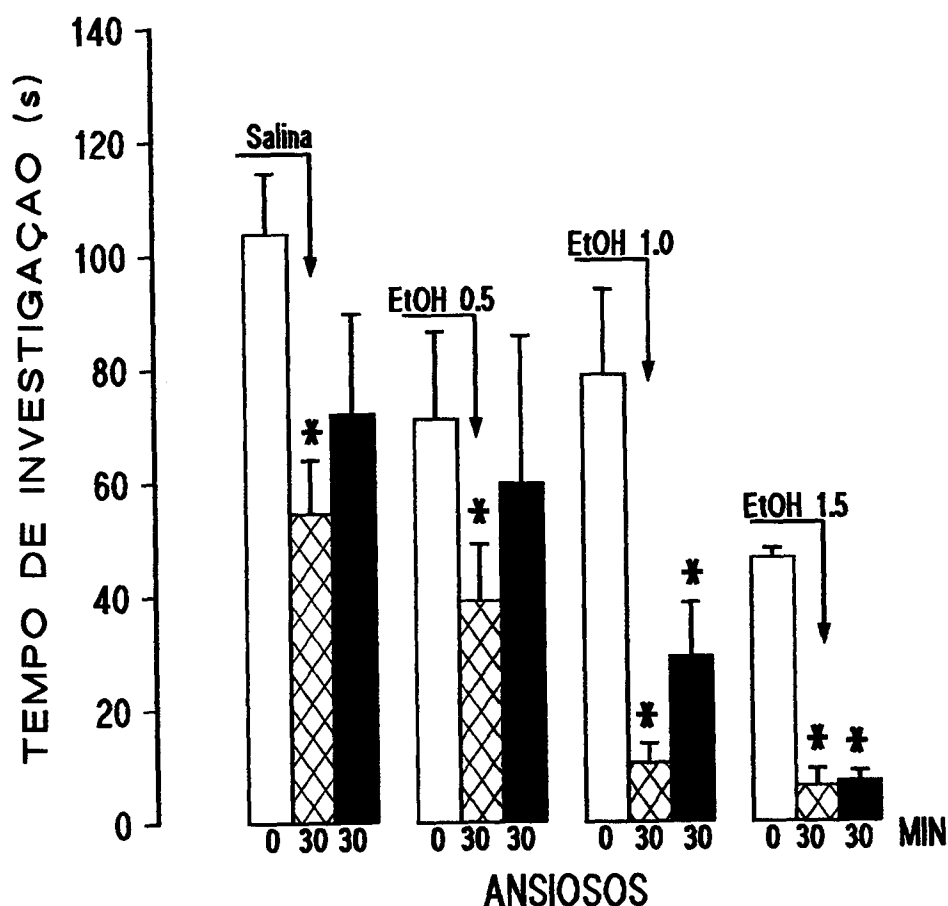
O teste foi efetuado registrando-se o tempo de investigação do animal adulto em relação a estímulos distintos (diferentes animais jovens da mesma espécie), aos 0 e 30 minutos. Após a exposição inicial, tempo 0, cada animal recebia solução controle ou EtOH. Trinta minutos depois, o animal adulto era exposto a um estímulo olfativo diferente para a avaliação do tempo de investigação. Vale ressaltar que os mesmos dados do experimento 4 no tempo de 30 minutos em relação ao mesmo estímulo animal foram utilizados para comparação do uso de estímulo diferente neste protocolo.

Os resultados da média  $\pm$  e.p.m. do tempo de investigação dos animais **ansiosos, intermediários e não-ansiosos** tratados com salina e EtOH estão ilustrados nas Figuras 4, 5 e 6. A análise estatística efetuada pela ANOVA de

duas vias com medidas repetidas demonstrou interação significativa do tratamento e tempo para o grupos ansiosos e intermediários [ $F_{3,25} = 4,998$ ,  $p < 0,0075$ ;  $F_{3,28} = 4,287$ ,  $p < 0,0159$ ; respectivamente]. Somente o grupo intermediário apresentou diferença estatística para o tratamento [ $F_{3,28} = 4,286$ ,  $p < 0,0159$ ]. Além disso, a ANOVA de duas vias com medidas repetidas demonstrou efeito significativo para o fator tempo em todos os grupos selecionados no LCE [ $F_{1,25} = 9,604$ ,  $p < 0,0048$ ;  $F_{1,28} = 41,489$ ,  $p < 0,001$ ;  $F_{1,26} = 22,673$ ,  $p < 0,0001$ ; para os grupos ansiosos, intermediários e não-ansiosos, respectivamente].

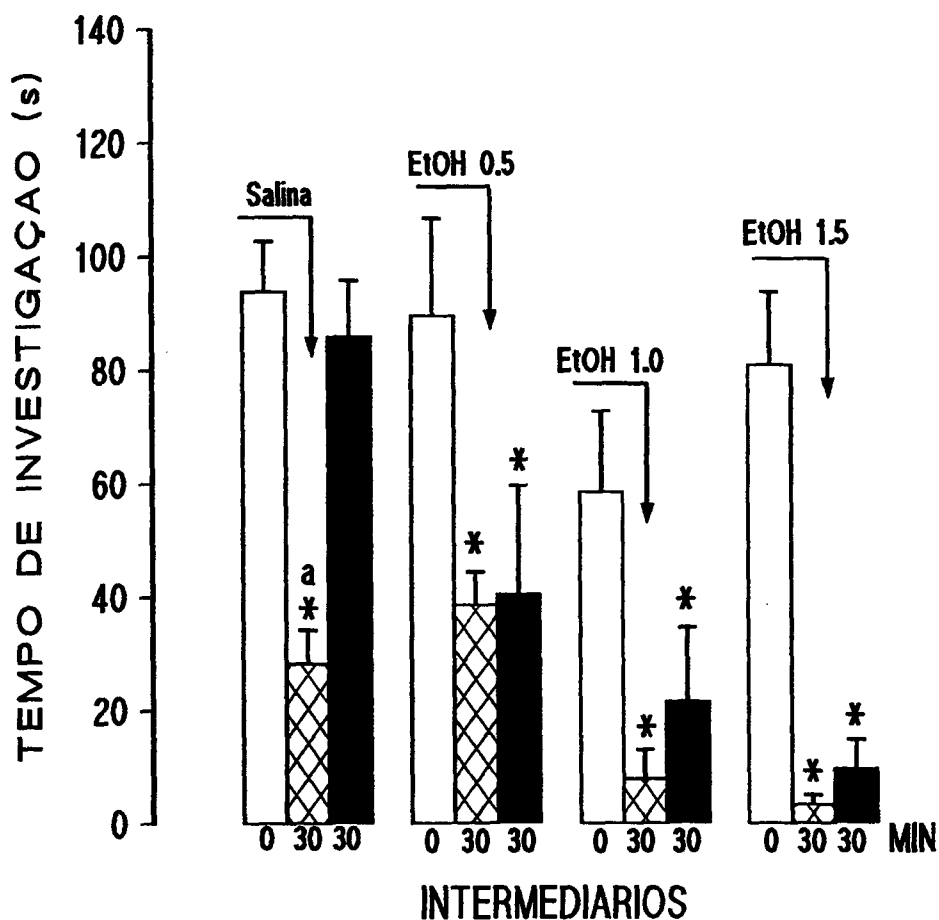
No teste de investigação social, segundo Dantzer e colaboradores, quando animais adultos são expostos após 30 minutos da exposição inicial a um animal jovem diferente, o tempo gasto na investigação é aproximado ao verificado na exposição inicial para outro animal.

No teste de memória social, sob a ação de EtOH (1,0 e 1,5 g/kg), os grupos **ansiosos** e **não-ansiosos** tiveram seu tempo de investigação diminuído, para um diferente estímulo, aos 30 minutos, Figuras 5 e 7, respectivamente. Além disso, o grupo **intermediário** após todas as doses de EtOH apresentou diminuição significativa na investigação social, figura 6. Portanto, os resultados mostram que o uso de um estímulo novo parece ser mais sensível, sendo o efeito de facilitação da memória pelo EtOH detectado em todos os subgrupos de ratos.



**Figura 5: Tempo de investigação social de ratos adultos ansiosos. A coluna hachurada representa o tempo de investigação junto ao rato jovem original e a coluna preta representa o tempo de investigação junto a um rato jovem diferente. O EtOH (0,5, 1,0 e 1,5 g/kg) foi injetado no rato adulto, imediatamente após a exposição inicial (tempo 0). Os resultados representam a média  $\pm$  e.p.m.**

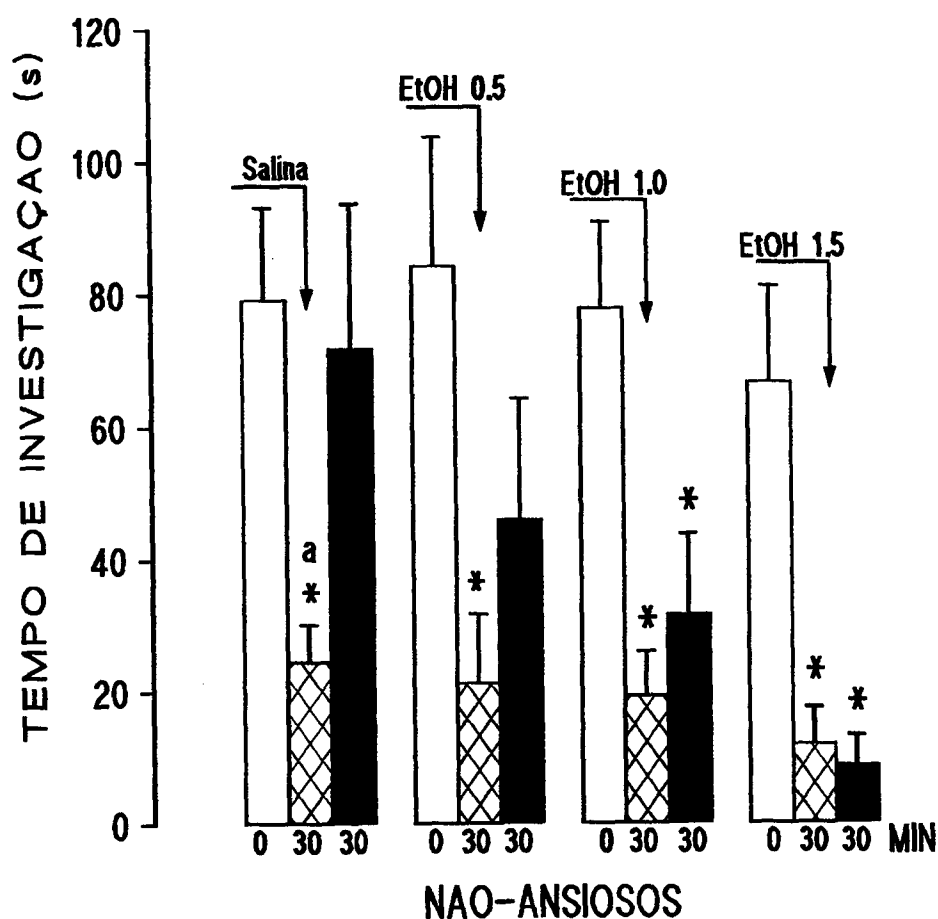
**\*  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 0 do respectivo grupo.**



**Figura 6: Tempo de investigação social de ratos adultos intermediários. A coluna hachurada representa o tempo de investigação junto ao rato jovem original e a coluna preta representa o tempo de investigação junto a um rato jovem diferente. O EtOH (0,5, 1,0 e 1,5 g/kg) foi injetado no rato adulto imediatamente após a exposição inicial (tempo 0). Os resultados representam a média  $\pm$  e.p.m.**

**\*  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 0 do respectivo grupo.**

**<sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 30 do respectivo grupo**



**Figura 7: Tempo de investigação social de ratos adultos não-ansiosos. A coluna hachurada representa o tempo de investigação junto ao rato jovem original e a coluna preta representa o tempo de investigação junto a um rato jovem diferente. O EtOH (0,5, 1,0 e 1,5 g/kg) foi injetado no rato adulto, imediatamente após a exposição inicial (tempo 0). Os dados representam a média  $\pm$  e.p.m.**

**\*  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 0 do respectivo grupo.**

**<sup>a</sup>  $p \leq 0,05$ , comparado com o tempo 30 do respectivo grupo.**



## 5.6 Avaliação da atividade locomotora com diferentes doses de etanol em animais ansiosos, intermediários e não-ansiosos.

A tabela 5 mostra o padrão basal de ansiedade dos animais classificando-os em animais **ansiosos, intermediários e não-ansiosos** utilizados neste experimento, replicando os dados obtidos anteriormente.

**Tabela 5- Parâmetros avaliados no labirinto em cruz elevado para a seleção prévia de ratos classificados como ansiosos, intermediários e não-ansiosos e posteriormente avaliados no teste da atividade locomotora. Os dados representam a média  $\pm$  e.p.m dos grupos.**

	Latência de entrada no braço aberto (s)	Número de cruzamentos nos braços abertos	Tempo total gasto nos braços abertos (s)	Número de Ratos Wistar
Geral	25,49 $\pm$ 5,3	15,7 $\pm$ 1,2	91,2 $\pm$ 6,9	60
Não-ansiosos	10,2 $\pm$ 3,2 •	26,7 $\pm$ 1,2*•	134,3 $\pm$ 12 *•	20
Intermediários	15,2 $\pm$ 2,7 •	15,5 $\pm$ 0,5 •	92,6 $\pm$ 8,2 •	20
Ansiosos	47,8 $\pm$ 13 *	6,4 $\pm$ 0,7*	46,5 $\pm$ 5,4 *	20

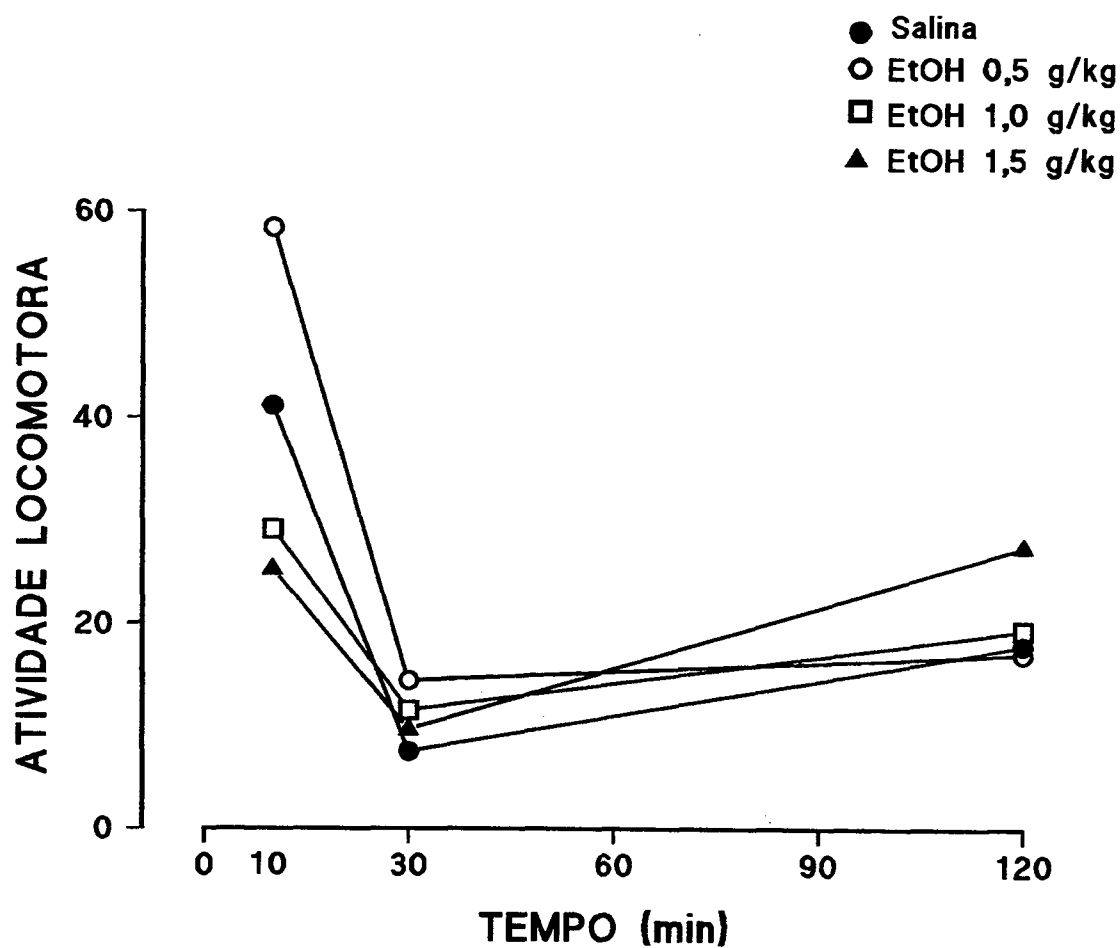
\* Diferença significativa em relação ao grupo Intermediário,  $p \leq 0,05$ . • Diferença significativa em relação ao grupo Ansioso,  $p \leq 0,05$ .

A realização deste experimento objetivou avaliar a presença do efeito sedativo do etanol em doses altas e sua possível interferência nos testes de preferência condicionada de lugar e de memória social, interferindo com o desempenho do animal nestes procedimentos.

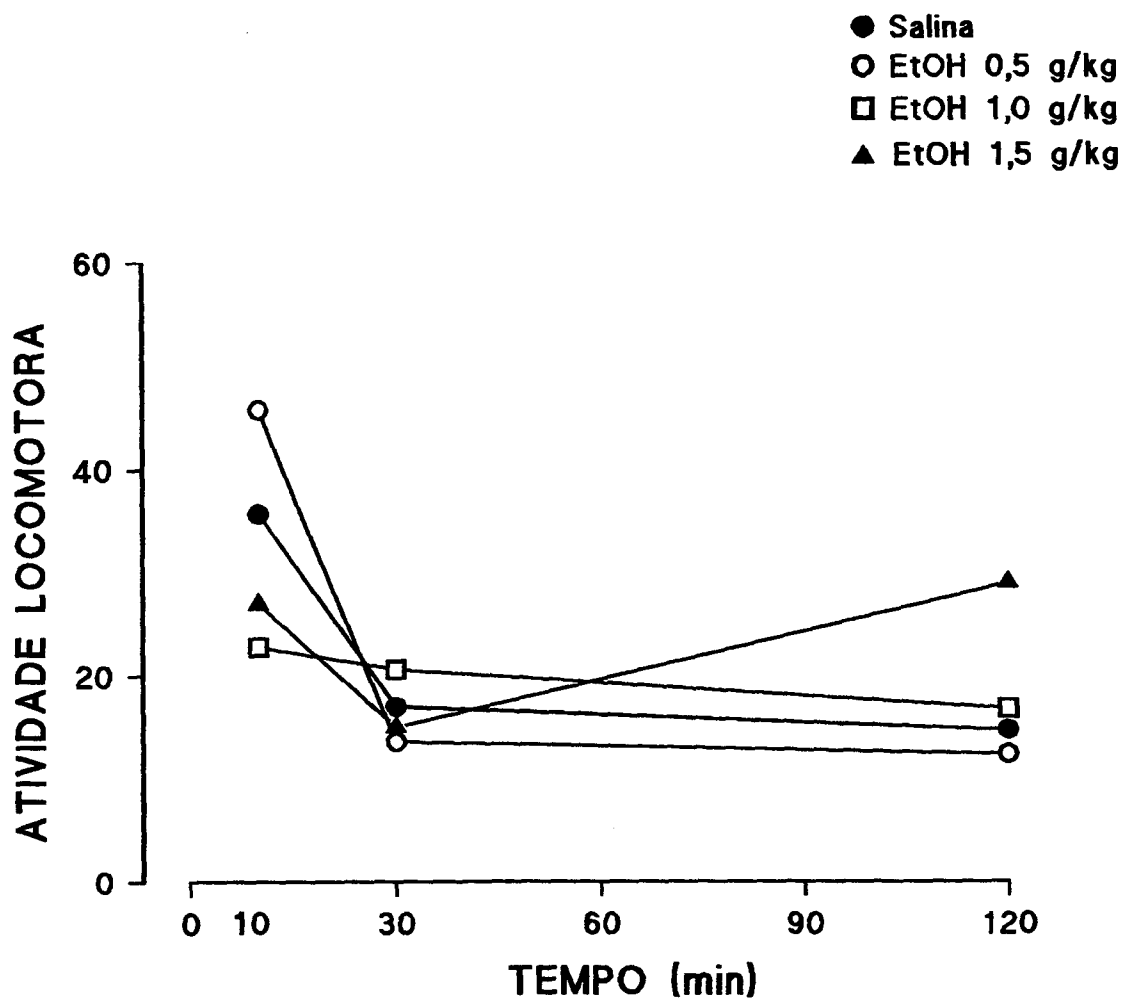
Os resultados da administração de diferentes doses de EtOH sobre a atividade locomotora de ratos ansiosos, intermediários e não-ansiosos, Tabela 5, em diferentes intervalos de tempo estão ilustrados nas Figuras 8, 9 e 10, respectivamente

Na Figura 8, para melhor clareza dos dados, as linhas verticais que representam o e.p.m não estão expressas. A análise estatística efetuada pela ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator tratamento [ $F_{11,39}=5,965$ ,  $p < 0,0001$ ], para o fator grupo [ $F_{2,78}=7,1698$ ,  $p=0,0014$ ] e para a interação entre estes dois fatores [ $F_{22,78}=1,6566$ ,  $p=0,05$ ].

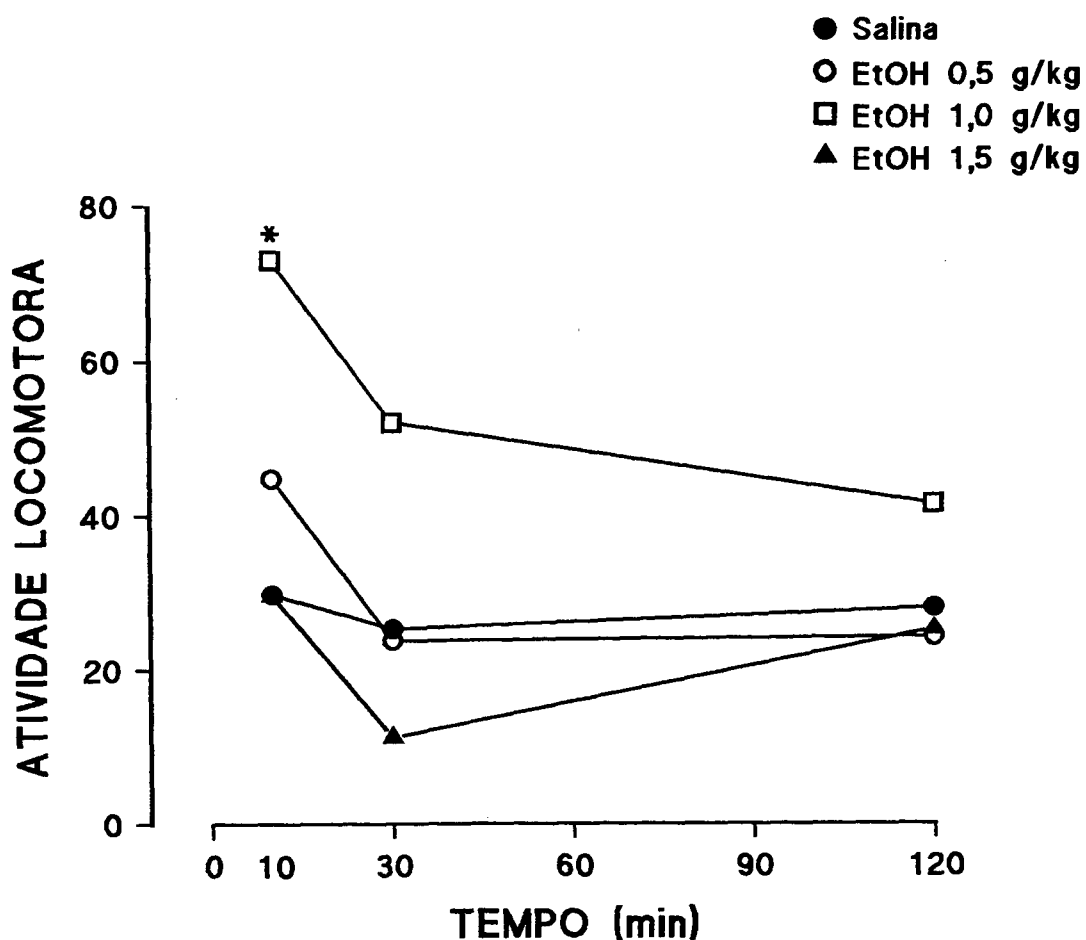
Os resultados indicaram que somente na dose 1,0 g/kg, o EtOH induziu aumento significativo na atividade locomotora de ratos **não-ansiosos**, aos 10 minutos, em relação ao grupo controle pelo teste de Newman-Keuls ( $p < 0,01$ ). Além disso, verificou-se que, aos tempos de 30 e 120 minutos, sob esta mesma dose, aquele grupo apresentou uma tendência, porém não significativa, de aumentar a atividade locomotora, Figura 9. Por outro lado, os grupos **ansiosos** e **intermediários** não diferiram significativamente do grupo controle, em diferentes tempos e diferentes doses de EtOH, como mostram as Figuras 8 e 10, respectivamente.



**Figura 8: Avaliação do efeito do EtOH 0,5, 1,0 e 1,5 g/Kg, via i.p., sobre a atividade locomotora em ratos ansiosos, medida em diferentes intervalos de tempo (10, 30 e 120 minutos). Dados expressos como a média de pelo menos 5 animais.**



**Figura 9: Avaliação do efeito do EtOH 0,5, 1,0 e 1,5 g/Kg, via i.p., sobre a atividade locomotora em ratos intermediários, medida em diferentes intervalos de tempo (10, 30 e 120 minutos). Dados expressos como a média de pelo menos 5 animais.**



**Figura 10: Avaliação do efeito do EtOH 0,5, 1,0 e 1,5 g/Kg, via i.p., sobre a atividade locomotora em ratos não-ansiosos, medida em diferentes intervalos de tempo (10, 30 e 120 minutos). Dados expressos como a média de pelo menos 5 animais. \* Diferença significativa em relação ao grupo controle,  $p \leq 0,05$ .**

## 6- DISCUSSÃO

A ampla variação de níveis de ansiedade em população de ratos Wistar observados no LCE é coincidente com os resultados de estudos prévios (Harro et al., 1990; Rogério & Takahashi; Spanagel et al., 1995) e pode sugerir uma heterogeneidade genética para respostas de ansiedade.

A existência de diferenças individuais é apontada na literatura, geralmente relacionando tais diferenças à resposta ao uso de drogas e levando à geração de linhagens geneticamente selecionadas (Teruel et al., 1991; Stewart et al., 1993, Zhou et al., 1994; Stewart et al., 1996; Möller et al., 1997). A seleção e classificação de grupos segundo sua atividade exploratória se apóia na variabilidade individual que vem sendo enfatizada na avaliação de respostas comportamentais na ausência de drogas – como constatado no experimento aqui relatado, podendo sugerir um modelo animal para respostas de ansiedade de acordo com as diferenças individuais.

O comportamento de ratos em um labirinto em cruz pode ser tomado como modelo animal de ansiedade, pois o labirinto produz uma situação de conflito entre a motivação natural do rato para explorar o ambiente e o medo inato de explorar um corredor aberto colocado a uma altura pouco segura para o animal (Dawson & Tricklebank, 1995). Evidências a favor do LCE ser um modelo de ansiedade baseiam-se em resultados que mostram alterações nos

níveis de hormônios liberados no stress, como as catecolaminas e os glicocorticóides (McEwen & Sapolsky, 1995) e, de níveis cerebrais de benzodiazepinas endógenas (Da Cunha et al., 1992). Além disso, outra evidência que pode ser relatada é o fato de situações comportamentais estressantes modificarem de forma coerente o comportamento de ratos no LCE (Wolfman et al., 1991).

Não sendo nova a idéia de selecionar ratos com um comportamento **ansioso e não-ansioso** de acordo com um modelo de ansiedade (Harro et al., 1990; Rogério & Takahashi, 1992, Spanagel et al., 1995), uma linha de trabalho que se destacou foi a seleção genética por cruzamentos sucessivos de ratos muito reativos (roman-high-avoidance RHA - não-ansiosos) ou poucos reativos (roman-low-avoidance RLA - ansiosos) segundo seu comportamento no teste da esquiwa ativa de duas vias (Teruel et al., 1991). Utilizando-se esta seleção genética, corre-se o risco de arrastar genes que estejam ligados, no mesmo cromossomo, aos genes de interesse na seleção, porém fisiologicamente sem nenhuma relação com ansiedade, levando a linhagens resultantes atípicas, diferentes e anormais. Contrariamente, na seleção utilizada em nosso estudo, estes riscos ficam minimizados, pois selecionamos ratos que existem em uma população heterogênea, mas com um comportamento distinto, que não varia de momento a momento, sendo considerado como característica constitucional da personalidade, denominado **ansiedade traço**, possibilitando assim, que se apresente a suposição do aparecimento de animais com um

perfil de comportamento relacionado ao **ansioso e não-ansioso** muito mais característico do que na seleção genética.

No presente estudo, um dos importantes resultados obtidos, com o teste de PCL, indica que, diferentes doses de EtOH (0,5; 1,0 e 1,5 g/kg, i.p.) causam significativa preferência condicionada de lugar em animais previamente selecionados como ansiosos. Estes resultados estão de acordo com dados da literatura que demonstram que o EtOH pode induzir propriedades reforçadoras em ratos normais. Além disso, os resultados do presente estudo sugerem que os efeitos reforçadores induzidos pelo etanol parecem depender da reatividade emocional dos animais. O termo reatividade emocional é aqui empregado para referir-se ao comportamento distinto dos animais no LCE, considerado como resultado de diferentes reações emocionais frente às situações experimentais.

Os resultados que alcançamos em nossos experimentos vão ao encontro dos relatos que se baseiam no padrão individual basal de ansiedade, evidenciando a hipótese redutora de tensão. Embora em vários estudos desenvolvidos em humanos não tenha ficado claramente evidenciada a hipótese redutora de tensão, outros experimentos constataram que indivíduos cronicamente ansiosos ou cronicamente estressados (isto é, que apresentam ansiedade traço) demonstram uma sensibilidade inata para os efeitos ansiolíticos do etanol e vulnerabilidade aos impulsos de ingestão de etanol (Schuckit &



Hesseibrock, 1994).

O estudo do efeito de drogas como o etanol nestes grupos com diferentes características individuais basais de ansiedade também pode contribuir para um melhor entendimento do fenômeno “ansiedade” e do papel reforçador daquela droga. Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que existe uma considerável influência da reatividade emocional individual nas respostas para a propriedade aditiva de drogas de abuso (Piazza et al., 1989).

Como já foi salientado, as drogas de abuso podem servir como reforçadores (Griffiths et al., 1979), sendo que a eficácia da propriedade reforçadora está relacionada ao potencial de abuso da droga (Johanson & Schuster, 1981). O condicionamento de lugar, como utilizamos em nosso estudo, tem sido freqüentemente empregado para estudar propriedades de recompensa de várias drogas de abuso, incluindo o etanol (Carr et al., 1989; Swerdiow et al., 1987). Muitas delas servem como estímulo incondicionado para a aquisição da propriedade de incentivo por um estímulo neutro, expresso como aproximação do local pareado com a droga.

A preferência condicionada de lugar pode ser obtida com vários psicoestimulantes, como a cocaína (Bardo et al., 1986; Spyraiki et al., 1982; Hoffman, 1989), a anfetamina (Spyraiki et al., 1982; Hoffman, 1989; Carr and White, 1983) e a apomorfina (van der Kooy et al., 1983). Estudos realizados

em nosso laboratório demonstraram que ratos tratados com mazindol (Zannin & Takahashi, 1994) e camundongos, pela associação etanol/mazindol (Gevaerd & Takahashi, 1996) permanecem mais tempo no compartimento pareado com a droga. Esse efeito também foi encontrado nos experimentos que Meisch e Stewart (1994) realizaram em roedores e primatas não-humanos.

A propriedade reforçadora do etanol, a partir de modelos animais de PCL, é mais dificilmente estabelecida que a apresentada pelo uso dos psicoestimulantes, gerando resultados conflitantes (Black et al., 1973). Como apontamos em nosso tópico de introdução, alguns autores relatam propriedade aversiva (Cunningham, 1979; Cunningham, 1980; van der Kooy et al., 1983; Sherman et al., 1988), enquanto outros indicam ação reforçadora (Stewart and Grupp, 1981; Asin et al., 1985; Reid et al., 1985; Bozarth, 1990; Bienkowski et al., 1995).

Além disso, muitas tentativas para estabelecer a PCL usando EtOH, em diferentes doses e diferentes vias de administração, não obtiveram sucesso (Asin et al., 1985; Cunningham, 1981; van der Kooy et al., 1983). Relatos de insucesso se fazem também a partir de experimentos com ratos, após 5 sessões de condicionamento de lugar (Cunningham, 1979; van der Kooy et al., 1983; Asin et al., 1985; Bienkowski et al., 1996). Outros estudos reportam propriedade aversiva com o emprego de altas doses de EtOH (Cunningham, 1979; van der Kooy et al., 1983). Estudos recentes realizados por Stewart

(1996), utilizando o paradigma de PCL, após 8 dias de condicionamento, onde grupos de ratos P e NP recebiam injeções i.p. de salina e EtOH (0,5; 1,0 e 1,5 g/kg) não constataram preferência de lugar em nenhuma das linhagens.

A oposição entre os resultados relatados e os verificados como grupo de ratos ansiosos em nosso estudo, utilizando doses similares, deve-se à pré-seleção dos animais envolvidos nos experimentos. Este importante fator foi responsável pelos dados encontrados permitindo comprovar o efeito reforçador do etanol.

Outros fatores também capazes de produzir respostas de preferência de lugar: prolongada pré-exposição ao EtOH (Reid et al., 1985; Gauvin & Holloway, 1991) e administração de doses baixas por longo período de condicionamento (Bienkowski et al., 1996) não foram testados em nosso estudo, cujos dados se produziram, como salientamos, a partir da pré-seleção dos ratos.

Estudos experimentais também utilizando o paradigma de PCL em ratos comprovaram preferência de lugar após injeção de EtOH, destacando-se, porém, tal ocorrência somente quando havia comida disponível no compartimento pareado com o álcool (Stewart & Grupp, 1981) ou quando combinado à morfina (Margiñ et al., 1988).

Bozarth (1990) evidenciou a propriedade reforçadora do EtOH pelo

teste de PCL, após um extensivo ensaio de condicionamento necessário para associar propriedades reforçadoras positivas do EtOH com um compartimento distinto. Ademais, Davies & Parker (1990) constataram preferência de lugar induzida por altas doses de EtOH (2,0 g/kg) em ratos e sugerem que baixas doses, consideradas menos aversivas, poderiam ser mais apropriadas para avaliar sua propriedade reforçadora.

Como também já registramos anteriormente, a relação entre ansiedade e EtOH tem gerado controvérsias. O presente estudo mostra que ratos “**ansiosos**” desenvolvem preferência de lugar após um curto período de condicionamento, 4 dias, considerando-se a hipótese de que o traço de ansiedade parece contribuir para o efeito reforçador do EtOH.

Não só o efeito reforçador do etanol se associa a ansiedade, mas também a tendência à ingestão de beber etanol se manifestam em estudos utilizando animais selecionados. A relação entre ansiedade e a tendência para beber etanol foi confirmada em estudos recentes em que ratos foram selecionados como **ansiosos** e **não-ansiosos**, de acordo com seu nível basal de ansiedade. Os resultados demonstraram que ratos **ansiosos** diferem significativamente de ratos **não-ansiosos** na ingestão de etanol. O estudo constatou que ratos **ansiosos** apresentaram, na fase de aquisição do hábito, preferência por beber etanol, que ingeriram em grande quantidade, o que não aconteceu com os ratos **não-ansiosos**. Estes resultados demonstraram que o

nível de ansiedade pode contribuir, em parte, para a motivação inicial de beber etanol (Spanagel et al., 1995).

Estudo análogo, apresentado em sua tese de doutorado, foi desenvolvido por Lacerda (1996). Tais estudos confirmaram que a prévia classificação de camundongos segundo seu desempenho no LCE permitiram caracterizar grupos com diferentes padrões comportamentais denominados **G1**, **G2**, **G3**, **G4** e **G5**. Além disso, estes diferentes grupos de camundongos responderam com padrões distintos para os tratamentos agudos e crônicos com baixas doses de EtOH e de diazepam.

Estes resultados se alinham com o estudo de Stewart et al (1993) que utilizaram linhagens genéticas de ratos que preferem álcool (**P**) e não-preferem álcool (**NP**), em três diferentes modelos de ansiedade, demonstrando que os ratos que preferem álcool são mais ansiosos dos que os não preferem álcool, confirmando a hipótese redutora de tensão a que quando analisamos os dados do efeito reforçador do etanol nesta discussão.

Mais recentemente trabalhos de Möller e colaboradores (1997) demonstraram diferenças comportamentais em dois modelos experimentais distintos de ansiedade, com linhagens de ratos geneticamente selecionadas: alta e baixa ingestão voluntária de EtOH - **AA** e **ANA**, respectivamente, quando compa-

rados com uma população heterogênea de ratos Wistar.

Estudos clínicos têm sido desenvolvidos para relacionar ansiedade e EtOH no comportamento humano. Sabe-se que desordens de ansiedade estão relacionadas com abuso de álcool (Schuckit and Hesseibrock 1994). Evidências familiares e epidemiológicas mostram que indivíduos cronicamente **ansiosos** (ansiedade traço) ou cronicamente estressados apresentam sensibilidade inata para os efeitos ansiolíticos do EtOH, vulnerabilidade esta baseada na hipótese redutora de tensão (Cappel and Hermann 1972; Wilson & Abrams, 1988; Schuckit and Hesseibrock, 1994). Alterações durante o desempenho de tarefas realizadas sob influência de drogas, em humanos, parecem estar relacionadas com a ansiedade traço (Janke et al., 1979). Nessa mesma linha de raciocínio, coloca-se a constatação de Parrot e Kentridge (1982) quando demonstraram um aumento de ansiedade com o uso de benzodiazepínicos em voluntários com **baixo traço de ansiedade**, e, de forma contrária, resposta ansiolítica à mesma droga, em voluntários com **traço elevado de ansiedade**.

É importante ressaltar, embora não testado no presente trabalho, que estudos desenvolvidos neste laboratório e outros realizados por Spanagel (1995) têm demonstrado que o EtOH, nas mesmas doses utilizadas no presente estudo, induziu efeito ansiolítico em ratos expostos ao labirinto em cruz elevado, possivelmente por atuar no complexo GABA/Benzodiazepínicos

(Criswell et al., 1994). Além de apresentar efeitos no sistema GABAérgico, doses moderadas de EtOH afetam a transmissão glutamatérgica, possivelmente por atuar como antagonista de NMDA (Criswell et al., 1994; Morato e Khan-na, 1996; Ferreira e Morato, 1996 ).

Estudos clínicos e também estudos experimentais têm relacionado as diferentes respostas individuais a drogas como o etanol, com o nível basal de ansiedade, o que foi verificado em nosso estudo experimental onde diferem as respostas induzidas pelo EtOH nos ratos submetidos ao procedimento de PCL.

Além disso, é muito provável que nossos resultados significantes de PCL entre os diferentes grupos testados com etanol sejam causados, em parte, pela baixa duração do tempo gasto pelos ratos **ansiosos** condicionados com salina. É necessário salientar que para a obtenção dos resultados deste grupo, foram utilizados vários lotes de animais para compor o grupo controle (tratados com solução salina).

Por outro lado, é importante salientar que no teste de PCL os efeitos reforçadores foram avaliados na ausência da droga, ficando excluídos outros fatores específicos (efeitos motores) e inespecíficos que poderiam mascarar o desempenho do animal neste procedimento (Mithani et al., 1986; Lawley e

Kantak, 1990; Calcagnetti e Schechter, 1992 e 1993). Além disso, a propriedade reforçadora no teste de PCL envolve outros fatores, incluído familiaridade e memória, que são independentes da propriedade de reforço.

Embora a preocupação com os substratos neurais envolvidos na ação do etanol no SNC não tenha sido objetivo do trabalho aqui relatado é preciso que se faça referência aos possíveis neurotransmissores relacionados com sua ação.

Ao longo dos anos, estudos têm demonstrado que o sistema dopaminérgico medeia os efeitos de várias drogas de abuso (Di Chiara & Imperato, 1988). Existem várias evidências sugerindo que o sistema dopaminérgico mesoaccumbens está envolvido nos efeitos de recompensa do etanol (Gessa et al., 1985; Di Chiara & Imperato, 1988; Yoshimoto et al., 1992; Di Chiara, 1995). Não há, contudo, confirmação de quais sejam os mecanismos neurofarmacológicos envolvidos com a propriedade reforçadora do EtOH, que provavelmente envolve mudanças na neurotransmissão dopaminérgica. Outro mecanismo que pode estar envolvido com a sensibilização induzida pelo stresse ou propriedade reforçadora do EtOH é a neurotransmissão do sistema Gabaérgico (Bienkowski et al., 1996).

Por outro lado, vários estudos foram realizados na tentativa de fazer interagir estímulos estressores com o comportamento de ingestão de etanol.



Os resultados apontados são conflitantes (Pohorecky 1981; Caplan and Puglisi, 1986). É importante salientar para que os níveis de ansiedade podem estar relacionados com experiências estressoras ocorridas no período pré e pós natal e venham a afetar o consumo de etanol (Pohorecky, 1981).

Um outro aspecto abordado neste estudo foi a participação do efeito do EtOH na memória olfativa, em ratos selecionados no LCE, no teste de investigação social, para examinar o envolvimento do processo de memória no teste de PCL. Embora o termo investigação social seja utilizado em nosso estudo como nos testes para avaliar “medida de ansiedade”, descrito por File, vale ressaltar que em nosso laboratório não só foram utilizados como também o sentido atribuído ao termo é o de medida de memória olfativa, baseando-se no tempo de cheirar um outro animal jovem da mesma espécie .

Não se pode deixar de mencionar a participação do componente ansiedade no teste de memória social. Estudos desenvolvidos por File (1980), utilizando o teste de interação social, com a finalidade de avaliar a medida de ansiedade constataram que a redução específica no tempo gasto na interação social em uma arena familiar, com baixa intensidade de luz, por pares de ratos machos da mesma espécie e idade, indica efeito ansiogênico desta droga. Além disso, sabe-se que o EtOH apresenta efeito ansiolítico em diferentes modelos experimentais. Faz-se necessário ressaltar um possível envolvimento

ansiolítico induzido pelo EtOH nesse teste. Com esta finalidade, estudos realizados relacionando interação social como medida de ansiedade e atividade locomotora demonstraram que estas duas medidas variam independentemente uma da outra. Por exemplo, cafeína diminui a interação social e aumenta a atividade locomotora, e quinoline PK 8165 pode diminuir a atividade locomotora sem alterar a interação social. No entanto, quando ambos, interação social e atividade locomotora, são reduzidos, é possível que a redução da interação social se dê em decorrência de um efeito ansiogênico e o prejuízo motor devido a um efeito sedativo. Em nosso estudo, uma evidência encontrada foi a diminuição da investigação que pode estar relacionada com o efeito do etanol na memória social, pois, em se tratando do efeito ansiolítico, o tempo de investigação deveria estar aumentado, o que não foi verificado no presente estudo.

Os resultados obtidos em nosso experimento, confirmam resultados prévios da literatura (Dantzer et al., 1987; Thor & Holloway, 1982, Sawyer et al., 1984, Perio et al., 1989) e demonstram que o modelo de investigação social pode ser considerado um modelo de memória, de acordo com o tempo de cheirar um animal jovem da mesma espécie.

Vale ressaltar que o tempo de duração em que ocorre a investigação social, principalmente o ato de cheirar, pode ser utilizado como índice de memória para esse estímulo em particular. Também se verificou, comparando os

resultados do tempo de investigação de ratos controle que 30 minutos após a exposição inicial de um rato jovem, o animal adulto reconheceu o mesmo animal, isto é, o tempo de investigação foi significativamente reduzido. Por outro lado, em nosso procedimento experimental quando exposto ao mesmo estímulo 2 horas mais tarde, não houve diferença do tempo de investigação em relação à exposição inicial, indicando que o traço de memória olfatória é de curta duração, como havia sido demonstrado por Dantzer e colaboradores (1987) em experimentos de facilitação retroativa. Engelmann e colaboradores (1995) observaram quando um novo estímulo lhe é apresentado aos 30 minutos, o animal adulto percebe a diferença e o tempo de investigação gasto é similar àquele observado durante a exposição do primeiro estímulo.

Os resultados do nosso estudo, onde ocorreu uma redução no tempo de investigação social praticada pelo rato adulto controle submetido ao mesmo estímulo aos 30 minutos, não se observando diferença no tempo de investigação quando outro estímulo foi apresentado, confirmam os registros de Engelmann. Quando, porém, o animal adulto estava sob influência do etanol, apresentou redução no tempo de investigação aos 30 e 120 minutos, sugerindo uma facilitação de memória, nesses tempos, induzida pelo etanol.

O estudo por nós desenvolvido não apenas observou diminuição ocorrida no tempo de investigação despendido pelo rato sob o efeito do etanol como também constatou diferenças na memória olfativa dos grupos classificados

como ansioso, intermediário e não-ansioso. No teste de memória social, com tempos diferentes de exposição, 30 e 120 min, ratos do grupo **intermediário** reduziram o tempo de investigação social, efeito no sentido de facilitar a memória, sob ação de EtOH. Para o grupo **ansioso** a facilitação foi diferenciada: observou-se aos 30 min, mas não 120 min após a administração do EtOH. O uso de um estímulo novo na memória social parece mais sensível do que o uso do mesmo estímulo, sendo o efeito de facilitação da memória pelo EtOH detectado em todos os subgrupos de ratos: em ratos **ansiosos** e **não-ansiosos** sob ação do EtOH (1,0 e 1,5 g/kg) e, em ratos **intermediários** sob ação de todas as doses de EtOH utilizadas, apresentam diminuição na investigação social, ao tempo de 30 minutos. Além disso, a facilitação da memória induzida pelo etanol mostram-se dissociados de possível efeito sedativo do EtOH medido na atividade locomotora.

Estudos anteriores a Dantzer realizados por Thor & Holloway (1982), alinham-se com os resultados de nossos experimentos. Observaram estes autores que ratos machos adultos são capazes de discriminar entre diferentes ratos jovens, e que a memória envolvida em particular é a de curto prazo. Além disso, tal memória estava relacionada com características olfativas do estímulo animal (Sawyer et al., 1984), o que se deu também em nosso estudo.

O processamento da memória olfativa está apoiado nas células do bulbo olfatório realizados por Scalia & Winaus (1975) demonstraram que os re-

ceptores envolvidos são os cílios olfatórios das vesículas olfatórias, pequenas dilatações do prolongamento periférico da célula olfatória. Estudos posteriores dos mecanismos sinápticos da memória olfatória mostraram que traços de memória olfativas foram bem localizados na sinapse dendrodendríticas, entre a célula mitral e a célula granule, no bulbo olfatório (Kaba & Nakanishi, 1995).

Embora, em nosso estudo, tenha sido claramente demonstrada a influência da reatividade emocional basal no teste de PCL em animais ansiosos, não foram nítidos os resultados quanto ao padrão basal: os diferentes grupos apresentaram facilitação da memória, não ficando restrita essa facilitação a um único grupo, nem às mesmas doses e tempos. Esse resultado indica a interferência de alguma variável não detectada, como, por exemplo, o isolamento.

Em suma, nossos dados sugerem que o etanol induziu uma facilitação da memória e que esta facilitação parece depender da reatividade emocional dos animais. Estes resultados confirmam a noção de que o EtOH pode facilitar a memória em roedores normais empregando-se o teste de esquiva inibitória, comparado com injeções controle, demonstraram que a administração imediatamente pós-treino de etanol em baixas (1,5 g/kg) e altas doses (4,5g/kg) facilitou a memória (Alkana & Parker, 1979) e, em humanos, com diferentes tarefas de aprendizagem: visual e verbal, a ingestão de álcool logo após o aprender facilita o lembrar (Parker et al., 1980). Além disso, a facilitação da memória

induzida pelo EtOH, avaliada no teste de memória social, parece contribuir para as respostas comportamentais, como o reforço positivo, no teste de PCL.

Um outro dado que reforça a as conclusões sobre a facilitação da memória induzida pelo etanol é o resultado verificado em estudos anteriores, em que a investigação social em ratos mostrou-se sensível para compostos que já haviam sido descritos como facilitadores dos processos de memória, como: drogas nootrópicas, drogas colinomiméticas e agonistas inverso dos benzodiazepínicos (Heise, 1987), apresentando-se, porém ineficaz quando são administrados psicoestimulantes como anfetamina e estircnina. Portanto o teste de investigação social pode representar um teste simples para detectar compostos que aumentam a memória olfatória de curta duração (Perio et al., 1989).

A introdução de álcool após a tarefa de aprender pode “proteger” de efeitos prejudiciais de interferência dos traços de memória adquirida. De acordo com a teoria de interferência de memória em humanos, atividades cognitivas realizadas durante o intervalo entre o aprender e o teste de memória é a maior causa de esquecimento (Keppel, 1972; Postmen, 1972). Quando o álcool é ingerido após o aprendizado inicial, atividades cognitivas subseqüentes à apreensão em diferentes estados são menos eficientes, aumentando as possibilidades diferentes de reduzir interferentes. É importante destacar que interferência e consolidação são fenômenos relacionados: a efetividade da

consolidação de traços de memória depende, em parte, da quantidade de informações que chega ao SNC, também, de adequados recursos neurais envolvidos na consolidação do traço e na competição desses recursos (Parker et al., 1980).

Uma outra possível confirmação de que o álcool facilita o processo de consolidação de memória baseia-se em estudos realizados em animais, nos quais a administração pós-treino de estimulantes do SNC como a anfetamina, a estriçnina e o pentilenotetrazol (McGaugh, 1973) e de hormônios como a adrenalina e o ACTH (McGaugh et al., 1975) tem sido interpretada como possibilidade da consolidação de traços de memória, nos substratos neurais. Embora o álcool seja considerado um depressor do SNC, apresenta efeito excitatório em baixas doses. Além disso, o álcool altera os sistemas catecolaminérgico e hormonal (Kakihana et al., 1968; Kaiant, 1975), que são importantes no processo de memória (de Wied, 1974; McGaugh et al., 1975; Lipton et al., 1978).

É bem conhecido o fato de que o etanol apresenta efeito sedativo quando administrado em altas doses em camundongos (Masur e Santos, 1988). No presente estudo, ficou caracterizado que o tratamento com EtOH 1,5 g/kg, em diferentes grupos, não alterou a atividade locomotora, descartando um possível envolvimento do efeito sedativo nas doses maiores de EtOH no teste de investigação social, mascarando então, o desempenho do animal neste pro-

cedimento. Evidências adicionais confirmam que o EtOH, em diferentes doses (0,4; 0,8; 1,0; 1,2; 1,6 g/kg), não altera a atividade locomotora, em ratos machos (Ferreira, 1996). Por outro lado, os resultados do presente estudo indicam que somente na dose de 1,0 g/kg o EtOH induziu um aumento estatisticamente significativo na atividade locomotora em ratos **não-ansiosos**, sugerindo um efeito estimulante do EtOH 1,0 g/kg, aos 10 minutos, nesses animais.

O nível de algumas drogas no soro e no cérebro pode atingir altos valores e persistir por um mais longo período em ratos mais velhos do que em ratos mais novos, refletindo um aumento da sensibilidade tecidual (Nabeshima et al., 1984). Além disso, como já se mencionou anteriormente, sabe-se que o etanol é absorvido rapidamente e detectado no sangue minutos após sua ingestão. No presente estudo, foi possível observar a concentração sanguínea do álcool após 15 minutos da administração intraperitoneal e correlacionar sua concentração plasmática com os dados comportamentais no teste de preferência de lugar e memória social.

Em conclusão, estes resultados sugerem que a prévia classificação de ratos segundo seu desempenho no LCE permitiu caracterizar grupos com diferentes padrões comportamentais. Além disso, a propriedade reforçadora do EtOH no teste de PCL parece diferir em ratos **ansiosos, intermediários e não ansiosos**, indicando que os animais **ansiosos** são mais sensíveis para os efeitos reforçadores do etanol. Além disso, no teste de investigação social



os resultados sugerem uma facilitação da memória induzida pelo etanol, que parece contribuir, para as respostas comportamentais, como o reforço positivo, no teste de PCL. Vale enfatizar a relevância da reatividade emocional basal de ratos para os efeitos comportamentais desencadeados pelo EtOH.

## 7- CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo, levam a concluir que:

- A propriedade reforçadora do EtOH no teste de PCL difere em ratos selecionados como **ansiosos, intermediários e não ansiosos**. Somente os animais **ansiosos** apresentaram preferência de lugar.
- Nos teste de memória social com tempos diferentes, o EtOH induziu efeito no sentido de facilitar a memória para o grupo intermediário. Para os demais grupos a facilitação foi diferenciada. Esse resultado pode ter contribuído para o efeito reforçador do EtOH no teste de PCL.
- O uso de estímulo novo na memória social parece mais suscetível à facilitação causada pelo EtOH, pois foi detectado em todos os subgrupos de ratos.
- Os resultados obtidos na avaliação da atividade locomotora sugerem que a facilitação de memória induzida pelo EtOH em ratos selecionados no LCE mostram-se dissociados de um possível efeito sedativo do álcool neste procedimento.
- Estes resultados enfatizam a importância da **reatividade emocional basal**

de ratos para os efeitos comportamentais produzidos pela administração do etanol, porém segerem que não existe uma correlação direta entre os diferentes experimentos.

## ABSTRACT

In order to examine the relationship between anxiety and some behavioral effects of ethanol (EtOH), drug-naive Wistar rats were selected as “anxious”(A), “nonanxious” (NA) and “intermediate” (I) in the elevated plus-maze test. After that a conditioned place preference (CPP) test was used to investigate the reinforcing effects of EtOH in these animals. In additional groups of selected rats, the social memory test was employed to examine the involvement of memory process in the CPP model. Moreover, in order to preclude the sedative effect in the previous experiments, the locomotor activity of these animals were also measured. Rats classified as “anxious” showed a significant place preference following all doses of EtOH (0.5, 1.0 and 1.5 g/kg) compared to rats conditioned with saline. In the social memory test carried out at different time of exposure, 30 and 120 min, rats belonging to the “I” group reduced the time of social investigation, thus indicating a memory facilitation action of EtOH in the task. In the “A” rats this effect was seen at 30 min, but not at 120 min after EtOH. The use of a different stimuli in the memory test appeared to be more sensitive than using the same stimuli, since the facilitatory effect of EtOH was detected in all subgroups of rats. Further, this memory facilitation induced by EtOH seemed dissociated from a sedative action of EtOH on locomotor activity. In conclusion, the present results suggest that the reinforcing effects of EtOH is significant only in “A” rats and that the memory facilitation action of EtOH, as measured in social memory model, could play a

role in CPP response. The relevance of the basal levels of anxiety of rats to detect subtle effects of EtOH seems clear, however no straight correlation was found between different experiments.

## 8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLENIUS, S.; CARLSON, A.; ENGEL, J.; SVENSSON, T.; SODERTEN, P. Antagonist by alpha methyltyrosine of the ethanol-induced stimulation and euphoria in man. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 565-591, 1973.
- ALKANA, R.L.; PARKER, E.S. Memory facilitation by post-training injection of ethanol. *Psychopharmacology*, **66**: 117-119, 1979.
- ASIN, K.E.; WIRTSHAFTER, D.; TABAKOFF, B. Conditioned place preference and ethanol. *Soc. Neurosci. Abstr.*, **9**: 1241, 1983.
- ASIN, K.E.; WIRTSHAFTER, D.; TABAKOFF, B. Failure to establish a conditioned place preference with ethanol in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **22**: 169-173, 1985.
- ASTON-JONES, S.; ASTON-JONES, G.; KOOB, G.F. Cocaine antagonizes anxiolytic effects of ethanol. *Psychopharmacology*, **84**: 28-31, 1984.
- BARDO, M.T.; NEISWANDER, J.L.; MILLER, J.S. Repeated testing attenuates conditioned place preference with cocaine. *Psychopharmacology*, **89**: 239-243, 1986.
- BARR, G. A.; PAREDES, W.; BRIDGER, W. A. Place conditioning with morphine and phencyclidine; dose dependent effects. *Life Sci.*, **36**: 363-368, 1985.
- BELZUNG, C.; MISLIN, R.; VOGEL, E. Does RO-15-4513 reverse the anxiolytic effects of ethanol by its intrinsic properties? *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **35**: 485-487, 1991.
- BERGMAN, J.; KAMIEN, J.B.; SPEALMAN, R.D. Antagonist of cocaine self-administration by selective dopamine D1 and D2 antagonists. *Behav. Pharmacol.*, **1**: 355-363, 1989.

- BIBB, J.; CHAMBLESS, D.L. Alcohol use and abuse among diagnosed agoraphobics. *Behav. Res. Ther.*, **24**: 49-58, 1986.
- BIENKOWSKI, P.; KUCA, P.; KOSTOWSKI, W. Conditioned place preference after prolonged preexposure to ethanol. *Pol. J. Pharmacol.*, **47**: 185-187, 1995.
- BIENKOWSKI, P.; KUCA, P.; PIASECKI, J.; KOSTOWSKI, W. Low dose of ethanol induced conditioned place preference in rats after repeated exposures to ethanol or saline injections. *Alcohol & Alcohol.*, **31(6)**: 547-553, 1996.
- BIRNBAUM, I.M.; PARKER, E.S. Alcohol and human memory. Hillsdale, New Jersey: Erlbaum, 1977.
- BIRNBAUM, I.M.; PARKER, E.S.; HARTLEY, J.T.; NOBLE, E.P. Alcohol and memory: Retrieval processes. *J. Verb. Learn. Verb. Behav.*, **17**: 325-335, 1978.
- BLACK, R.W.; ALBINIAK, T.; DVIS, M.; SCHUMPERT, J. A preference in rats for cues associated with intoxication. *Bull. Psychonom. Soc.*, **2**: 423-424, 1973.
- BLUTHÉ, R.M.; DANTZER, R.; MORMEDE, P.; LE MOAL, M. Specificity of aversive stimulus properties of vasopressin. *Psychopharmacology*, **87**: 238-241, 1985.
- BOWEN, R.C.; CIPYWNYK, D.; D'ARCY, C.; KEEGAN, D. Alcoholism, anxiety disorders, and agoraphobia. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **8**: 48-50, 1984.
- BOZARTH, M.A. Conditioned place preference: A parametric analysis using systemic heroin injections. In: Bozath, M.A., ed. *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. New York: Springer-Verlag; 241-274, 1987.
- BOZARTH, M.A. Evidence for rewarding effects of ethanol using the conditioned place preference method. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **35**: 485-487, 1990.

- BROADBENT, J.; GRAHAME, N.J.; CUNNINGHAM. Haloperidol prevents ethanol-stimulated locomotor activity but fails to block sensitization. *Psychopharmacology*, **120**: 475-482, 1995.
- BRODIE, M.S.; SHEFER, S.A.; DUNWIDDIE, T.V. Ethanol increases the firing rate of dopamine neurons of the rat ventral tegmental area in vitro. *Brain Res.*, **508**: 65-69, 1990.
- BRODY, N. Personaliti. In: *Search of Individuality*. San Diego: Academic Press., 1988.
- CALGAGNETTI, D.J.; SCHECHTER, M.D. Place preference for the psychostimulant cathinone is blocked by pretreatment with a dopamine release inhibitor. *Prog. Neuropsychopharmacol.; Biol. Psychiat.*, **17**: 637-649, 1993.
- CALGAGNETTI, D.J.; SCHECHTER, M.D. Reducing the time needed to conduct conditioned place preference testing. *Prog. Neuropsychopharmacol. ; Biol. Psychiat.*, **16**: 969-976, 1992.
- CAPLAN, M.A.; PUGLISI, K. Stress and conflict conditions leading to and maintaining voluntary alcohol consumption in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **24**: 271-280, 1986.
- CAPPELL, H.; HERMAN, C.P. Alcohol and tension reduction: a review. *Q. J. Stud Alcohol.*, **33**: 33-64, 1972.
- CARR, G.D.; FIBIGER, H.C.; PHILLIPS, A.G. Conditioned place preference as a measure of drug reward. In: *The Neuropharmacological Basis of Reward* (Lirbman, J.M.; Cooper, S.J., eds), Cladernon Press, Oxford, 264-319, 1989.
- CARR, G.D.; WHITE, N.M. Conditioned place preference from intra-accumbens but not intra-caudate amphetamine injections. *Life Sci.*, **33**: 2551-2557, 1983.
- CARR, W.J.; HIRSCH, J.T.; BALAZS, J.M. Responses of male rats to odors from familiar vs. novel females. *Behav. Neural Biol.*, **29**: 331-337, 1980.



- CARR, W.J.; YEE, L.; GABLE, D.; MARASCO, E. Olfactory recognition of conspecifics in domestic Norway rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **90**: 821-828, 1976.
- CARSON, E.J.; PRUETT, S.B. Development and characterization of a binge drinking model in mice for evaluation of the immunological effects of ethanol. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **20(1)**: 132-138, 1996.
- CASTELLANO, C.; POPULIN, R. Effects of ethanol on memory consolidation in mice-antagonism by the imidazobenzodiazepine Ro-15-4513 and decrement by familiarization with the environment. *Behav. Brain Res.*, **40**: 67-72, 1990.
- CHAMBLESS, D.L.; CHERNEY, J.; CAPUTO, G.C.; RHEINSTEIN, B.J. Anxiety disorders and alcoholism: a study with inpatient alcoholics. *J. Anxiety Disord.*, **1**: 29-40, 1987.
- CHARNESS, M.E.; SIMON, R.P.; GREENBERG, D.A. Ethanol and the nervous system. *N. Engl. J. Med.*, **321**: 442-454, 1989.
- CLONINGER, C.R. Neurogenic adaptive mechanisms in alcoholism. *Science (Wash. D.C.)*, **236**: 410-416, 1987.
- COLPAERT, F.C.; KOEK, W. Empirical evidence that the state dependence and drug discrimination paradigms can generate different outcomes. *Psychopharmacology*, **120**: 272-279, 1995.
- COWLEY, D.S. Alcohol abuse, substance abuse, and panic disorder. *Am. J. Medic. Suppl.*, **1A**: 41-48, 1992.
- CRISWELL, H. E.; KNAPP, D. J.; OVERSTREET, D. H.; BREESE, G. R. Effects of ethanol, chlordiazepoxide, and MK-801 on performance in the elevated plus-maze and on locomotor activity. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **18**: 596-601, 1994.

- CROW, T.J. Catecholamine-containing neurones and electrical self-stimulation: A theoretical interpretation and some psychiatric implications, *Psycholog. Med.*, **3**: 66-73, 1973.
- CUNNINGHAM, C.L. Flavor and location aversion produced by ethanol. *Behav. N. Biol.*, **27**: 362-367, 1979.
- CUNNINGHAM, C.L. Spatial aversion conditioning with ethanol. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **14**: 263-264, 1981.
- CUNNINGHAM, C.L.; NIEHUS, D.R.; MALLOT, D.H.; PRATHER, K. Genetic differences in the rewarding and activating effects of morphine and ethanol. *Psychopharmacology*, **107**: 385-393, 1992.
- Da CUNHA, C.; LEVI DE STEIN, M.; WOLFMAN, C.; KOYA, R.; IZQUERDO, I.; MEDINA, J.H. Effect of various training procedures on performance in an elevated plus-maze: Possible relation with brain regional levels of benzodiazepine-like molecules. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **43**: 677-681, 1992.
- DANTZER, R.; BLUTHE, R.M.; KOOB, G.F.; MOAL, M.LE. Modulation of social memory in male rats by neurohypophyseal peptides. *Psychopharmacology*, **91**: 363-368, 1987.
- DAVIES, B.T.; PARKER, L.A. Novel versus familiar ethanol: a comparison of aversive and rewarding properties. *Alcohol*, **7**: 523-529, 1990.
- DAWSON, G.R.; TRICKLEBANK, M.D. Use of the elevated plus-maze in the search for novel anxiolytic agents. *TIPS*, **16**: 33-36, 1995.
- DE LORY, T.M.; OLSEN, R.W. GABA and Glycine. In: G.J. Siegel, B.W. Agranoff; R.W. Albers; P.B. Molinoff. eds. *Basic Neurochemistry*, 1<sup>a</sup> ed., Raven Press, p 389-399, New York, 1994.
- DEAKIN, J.F.W.; GRAEFF, F.G. 5-HT and mechanisms of defence. *J. Psychopharmacol.*, **5**: 305-315, 1991.

- Di CHIARA, G. The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug and Alcohol Dependence*, **38**: 95-137, 1995.
- Di CHIARA, G.; IMPERATO, A. Drug abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**: 5274-5278, 1988.
- DUDEK, B.C.; ABBOTT, M.E. The relationship between ethanol-induced locomotor activation and narcosis in long-sleep and short-sleep mice. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **8**: 272-276, 1984.
- EISENDRATH, S.J.; BROPHY, J.J. Psychiatric disorders. In: Tierney, L.M.; McPhee, S.J.; Papadakis, M.A. (eds.), *Current Medical diagnosis and treatment*. Connecticut: Appleton and Lange Press, 905-906, 1995.
- ENGELMANN, M.; LANDGRAF, R. Microdialysis administration of vasopressin into the septum improves social recognition in Brattleboro rats. *Physiol. Behav.* **55**: 145-149, 1994.
- ENGELMANN, M.; WOTJAK, C.T.; LANDGRAF, R. Social discrimination procedure: An alternative method to investigate juvenile recognition abilities in rats. *Physiol. Behav.*, **58(2)**: 315-321, 1995.
- ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. **1**: Behavioural data. *Behav. Brain Res.*, **31**: 47-59, 1988.
- FADDA, F.; MOSCA, E.; COLOMBO, G.; GESSA, G.L. Alcohol preferring rats: Genetic sensitivity to alcohol-induced stimulation of dopamine metabolism. *Physiol. Behav.* **47**: 727-729, 1990.
- FADDA, F.; MOSCA, E.; COLOMBO, G.; GESSA, G.L. Effect of spontaneous ingestion of ethanol on brain dopamine metabolism. *Life Sci.* **44**: 281-287, 1989.
- FASS, B.; GUTERMANN, P. E.; STEVENS, D.A. Evidence that rats discriminate between familiar and unfamiliar putative urinary odorants of adult male conspecifics. *Aggress. Behav.*, **4**: 231-236, 1978.

- FERREIRA, V.M.M. Influência da idade, do sexo e do complexo receptor NMDA no comportamento de ratos tratados com etanol no labirinto em cruz elevado. Tese de Mestrado apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 1996.
- FERREIRA, V.M.M.; MORATO, G.S. Influence of age and pre-treatment with D-cycloserine on the behavior of ethanol-treated rats tested in the elevated plus-maze apparatus. *Addic. Biol.*, **1**: 395-404, 1996.
- FILE, S.E. The use of social interaction as a method for detecting anxiolytic activity of chlordiazepoxide-like drugs. *J. Neurosci. Meth.* **2**: 219-238, 1980.
- FRYE, G.D.; BREESE, G.R. An evaluation of the locomotor stimulating action of ethanol in rats and mice. *Psychopharmacology*, **75**: 372-379, 1981.
- GALANTER, M. Recent development in alcoholism. New York: Plenum Press, 1987.
- GAUVIN, D.V.; BRISCOE, R.J.; BAIRD, T.J.; VALLET, M.; HOLLOWAY, F.A. The paradoxal hedonic valence of acute ethanol withdrawal (hangover) states in rats: place and taste conditioning. *Alcohol*, **14(3)**: 261-268, 1997.
- GAUVIN, D.V.; HOLLOWAY, F.A. Historical factors in the development of EtOH-conditioned place preference. *Alcohol*, **9**: 1-7, 1991.
- GEORGE, D.T.; NUTT, D.J.; DWYER, B.A.; LINNOILA, M. Alcoholism and panic disorder: Is the comorbidity more than coincidence? *Acta Psychiatr. Scand.*, **81**: 97-107, 1990.
- GEORGE, F.R.; GOLDBERG, S.R. Genetics factors in response to cocaine. In mechanisms of cocaine abuse and toxicity, ed. by D. Clouet, K. asghar and R. Brown, pp 239-249, NIDA Research Monograph 88, Rockville, 1988.

- GESSA, G.L.; MUNTONI, F.; COLLU, M.; VARGIU, L.E.; MEREU, G.P. Low doses of ethanol activate dopaminergic neurones in the ventral tegmental area. *Brain Res.*, **348**: 201-203, 1985.
- GEVAERD, M.S. Efeitos comportamentais induzidos pela associação etanol + mazindol em camundongos. Tese de Mestrado apresentada a Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 1996.
- GEVAERD, M.S.; TAKAHASHI, R.N. Interaction of mazindol with alcohol in mice. *Addic. Biol.*, **1**: 303-307, 1996.
- GOLDSTEIN, D.B. *Pharmacology of alcohol*. New York: Oxford University Press, 1983.
- GOODWIN, D.W. Alcoholism and heredity: A review and hypothesis. *Arch. Gen. Psychiatry*, **36**: 57-61, 1979.
- GRAEFF, F.G. *Drogas Psicotrópicas e seu modo de ação*. 2 ed. São Paulo. E. P. U. 61-83, 1989.
- GRAEFF, F.G.; BRANDÃO, M.L.; TOMAZ, C.; GUIMARÃES, F.S. *Neurobiologia das doenças mentais*. 1 ed. São Paulo. Lemos. 109-144, 1993.
- GRIFFITHS, R.R.; BRADFORD, L.D.; BRADY, J.V. Progressive ratio and fixed ratio schedules of cocaine-maintained responding in baboons. *Psychopharmacology*, **65**: 125-136, 1979.
- HARRO, J.; KIIVET, R.A.; LANG, A.; VASAR, E. Rats with anxious or non-anxious type of exploratory behaviour differ in their brain CCK-8 and benzodiazepine receptor characteristics. *Behav. Brain Res.* **39**: 63-71, 1990.
- HARTLEY, J.T.; BIRNBAUM, I.M.; PARKER, E.S. Alcohol and storage deficits: Kind of processing? *J. Ver. Learn. and Verb. Behav.* **17**: 635-647, 1978.

- HEISE, G.A. Facilitation of memory and cognition by drugs. *TIPS*, **8**: 65-69, 1987.
- HELZER, J.E.; PRYZBECK, T.R. The co-occurrence of alcoholism with other psychiatric disorders in the general population and its impact on treatment. *J. Stud. Alcohol.*, **49**: 219-224, 1988.
- HEYSER, C.J.; MILLER, J.S.; SPEAR, N.E.; SPEAR, L.P. Prenatal exposure to cocaine disrupts cocaine-induced conditioned place preference in rats. *Neurotoxicol. Teratol.*, **14**: 57-64, 1992.
- HLINÁK, Z.; KREJČÍ, I. Social recognition in male rats: Age differences and modulation by MIF-I and Alaptide. *Physiol. Res.*, **40**: 59-67, 1991.
- HOFFMAN, D.C. The use of place conditioning in studying the neuropharmacology of drug reinforcement. *Brain Res. Bull.*, **23**: 373-387, 1989.
- HOFFMAN, P.L.; RABE, C.S.; GRANT, K.A.; VALVERIUS, P.; HUDSPITH, M.; TABAKOFF, B. Ethanol and the NMDA receptor. *Alcohol*, **7**: 229-231, 1990.
- HOLLOWAY, F.A.; KING, A.; BEDINGFIELD, J.G.; GAUVIN, D.V. Role of context in ethanol tolerance and subsequent hedonic effects. *Alcohol*, **9**: 109-116, 1992.
- HONKANEM, A.; CHRAPUSTA, S.J.; KAROUM, F.; KORPI, E.R. Alterations in dopamine metabolism by intraperitoneal ethanol in rats selected for high and low ethanol preference: a 3-Methoxytyramine study. *Alcohol*, **11(4)**: 323-328, 1994.
- HOPP, S.L.; OWREN, M.J.; MARION, J.R. Olfactory discrimination of individual littermates in rats (*Rattus norvegicus*). *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **99**: 248-251, 1985.
- HYMAN, S.E.; NESTLER, E.J. Initiation and adaptation: A paradigm for understanding psychotropic drug action. *Am. J. Psychiat.*, 153-162, 1996.

- IMPERATO, A.; Di CHIARA, G. Dopamine release and metabolism in awake rats after systemic neuroleptics as studied by trans-striatal dialysis. *J. Neurosci.*, **5**: 297-306, 1985.
- IMPERATO, A.; Di CHIARA, G. Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **239**: 219-228, 1986.
- IZQUIERDO, I.; MEDINA, J.H. GABA-A receptor modulation of memory: the role of endogenous benzodiazepines. *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**: 260-265, 1991.
- IZQUIERDO, I.; PEREIRA, M.E.; Da CUNHA, C.; WOLFMAN, C.; MEDINA, J.H. Benzodiazepine receptor ligand influences on learning: an endogenous modulatory mechanism mediated by benzodiazepines possibly of alimentary origin. *Mem-Inst-Oswaldo-Cruz*, **86 Suppl.**, **2**: 169-171, 1991.
- JANKLE, W.; DEBUS, G.; LONGO, N. Differential psychopharmacology of tranquilizing and sedative drugs. In: Ban. T. A. et al. *Modern problems in pharmacopsychiatry*. Vol. 14. Karger, Basel. 13-98, 1979.
- JOHANSON, C.E.; SCHUSTER, C.R. Animal models of drug self-administration. In: *Advances in Substance Abuse: Behavioral and Biological Research* (Mello, N. K., ed.), Al Press. Greenwich, C. T., **II**: 219-297, 1981.
- KABA, H.; NAKANISHI, S. Synaptic mechanisms of olfactory recognition memory. *Rev. Neurosci.*, **6(2)**: 125-141, 1995.
- KAKIHANA, R.; NOBLE, E.P.; BUTTE, J.C. Corticosterone response to ethanol in inbred strains of mice. *Nature*, **218**: 360-361, 1968.
- KALANT, H. Direct effects of ethanol on the nervous system. *Fed. Proc.*, **34**: 1930-1941, 1975.
- KEPPEL, G. Forgetting. In: *Human memory: Festschrift for Benton* J. Underwood. C.P. Duncan, L. Sechrest, A. W. Melton, eds., pp. 83-109. New York: Appleton-Century-Crofts, 1972.

- KLEMM, W.R. Dehydration: A new alcohol teory. *Alcohol*, **7**: 49-59, 1990.
- KOOB, F.G.; DANTZER, R.; RODRIGUES, F.; BLOOM, F.E.; LE MOAL, M. Osmotic stress mimics of vasopressin on learned behavior. *Nature*, **315**: 750-752, 1985.
- KOOB, F.G.; BLOOM, F.E. Celular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science (Wash. DC)*, **242**: 715-723, 1988.
- KOOB, G.F.; GOEDERS, N.E. Neuroanatomical substrates of drug self-administration. In: LIEBMAN, J.M.; COOPER, S.J. eds. *The neuropharmacological basis of reward*. New York: Oxford University Press, 214-263, 1989.
- KOSTEN, T.A.; MISERENDINO, M.J.D.; CHI, S.; NESTLER, E.J. Fischer and Lewis rats strains show differential cocaine effects in conditioned place preference and behavioral sensitization but not in locomotor activity or conditioned taste aversion. *J. Pharmacacol. Exp. Ther.*, **269**: 137-144, 1993.
- KUSHNER, M.G.; SHER, K.J.; BEITMEN, B.D. The relation between alcohol problems and anxiety disorders. *Am. J. Psychiat.*, **147**: 685-695, 1990.
- LACERDA, R.B. Efeitos ansiolítico e excitatório do etanol administrado aguda ou cronicamente a camundongos: um estudo da variabilidade individual. Tese de doutorado apresentada à Universidade Federal de São Paulo- Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1996.
- LADER, M. The nature of anxiety. *Br. J. Psychiat.*, **121**: 481-491, 1972.
- LAMBERTY, G.J.; BECKWITH, B.E.; PETROS, T.V. Posttrial treatment with ethanol enhances recall of prose narratives. *Physiol. Behav.*, **48**: 653-658, 1990.



- LANDAUER, T.K. Remarks on the detection and analysis of memory deficits. In: Alcohol and human memory. I. M. Birnbaum, E.S., E.S. Parker, eds., pp23-41. New Jersey: Erlbaum, 1977.
- LAWLEY, S.I.; KANTAK, K.M. Post conditioning effects of magnesium on cocaine conditioned place preference in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **36**: 531-538, 1990.
- LEWIS, M.J. Alcohol reinforcement and neuropharmacological therapeutics. *Alcohol Alcohol.*, **31(1)**: 17-25, 1996.
- LIEBER, C.S. Medical and nutritional complications of alcoholism: mechanisms and management. New York: Plenum Press, 1992.
- LIPTON, M.A.; Di MASCIO, A.; KILLAN, K.F., EDS., IN: Psychopharmacology: A generation of progress, pp. 621-689. New York: Raven 1978.
- LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol. Ther.*, **46**: 321-340, 1990.
- LISTER, R.G. Interactions of three benzodiazepine receptor inverse agonists with ethanol in a plus-maze test of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **30**: 701-706, 1988.
- LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, **92**: 180-185, 1987.
- MACGAUGH, J.L.; LIANG, K.C.; BENNETTO, C.; STERNBERG, D.B. Adrenergic influences on memory storage: Interaction of peripheral and central systems. In: Lynch, G.; Mc Gaugh, J.L.; Weinberger, N.M. (eds.) *Neurobiology of Learning and Memory*, Guilforal Press. New York, 313-332, 1984.
- MAJEWSKA, M.D.; DEMIRGOREN, S.; LONDON, E.D. Binding of pregnenolone sulfate to rat brain membranes suggest multiple sites of steroid action at the GABA<sub>A</sub> receptor. *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol. Sect.*, **189**: 307-315, 1990.

- MARGLIN, S.H.; MacKECHINE, D.K.; MATTIE, M.E.; HUI, Y.; REID, L.D. Ethanol with small doses of morphine establishes a conditioned place preference. *Alcohol*, **5**: 309-313, 1988.
- MARKS, I.; LADER, M. Anxiety states (anxiety neurosis): a review. *J. nerv. ment. Dis.*, **156**: 3-18, 1973.
- MASUR, J.; MONTEIRO, M.G. Validation of the "CAGE" alcoholism screeming test in a brazilian psychiatric impatient hospital setting. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, **16**: 215-218, 1983.
- MASUR, J.; FORMIGONI, M.L.S.; PIRES, M.L.N. Increased stimulatory effect by the combined administration of cocaine and alcohol in mice. *Alcohol*, **6**: 181-182, 1989.
- MASUR, J.; SANTOS, H.M.L.M. Response variability of ethanol-induced locomotor activation in mice. *Psychopharmacology*, **96**: 547-550, 1988.
- MCEWEN, B.S.; SAPOLSKY, R.M. Stress and cognitive function. *Cur. Neurobiol.*, **5**: 205-216, 1995.
- MCGAUGH, J.L. Drug facilitation of learning and memory. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **13**: 1351-1358, 1966.
- MCGAUGH, J.L.; GOLD, P.E.; VAN BUSKIRK, R.; HAYCOCK, J. Modulating influences of hormones and cathecolamines on memory storage processes. In: *Hormones, homeostasis and the brain*. W.H. Gispin, Tj. B.V.W. Greidanus, B. Bohus, D. de Weid, eds., pp. 151-152, Amsterdam: Elsevier, 1975.
- MEISCH, R.A.; STEWART, R.B. Ethanol as a reinforcer: a review of laboratory studies of non-human primates. *Behav. Pharmacol.*, **5**: 425-440, 1994.
- MELCHIOR, C.L.; RITZMANN, R.F. Neurosteroids block the memory-impairing effects of ethanol in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **53**: 51-56, 1996.

- MEREU, G.; GESSA, G.L. Low doses the ethanol inhibit the firing rate of neurons in the substantia nigra, pars reticulata: A GABAergic effect? *Brain Res.*, **360**: 325-330, 1985.
- MILLER, M.E.; ADESSO, V.J.; FLEMING, J.P.; GINO, A.; LAUERMAN, R. Effects of ethanol on storage and retrieval processes of heavy social drinkers. *J. Exp. Psychol.*, **4**: 246-255, 1978.
- MITHANI, S.; MARTIN-IVERSON, M.T.; PHILLIPS, A.G.; FIBIGER, H.C. The effects of haloperidol on amphetamine and methyl-phenidate-induced conditioned place preference and locomotor activity. *Psychopharmacology*, **90**: 247-252, 1986.
- MOCSARY, Z.; BRADBERRY, C.W. Effect of ethanol on extracellular dopamine in nucleus accumbens: comparison between Lewis and Fischer 344 rat strains. *Brain Res.*, **706**: 194-198, 1996.
- MOLLER, C.; WIKLUND, L.; SOMMER W.; THORSELL, A.; HEILIG, M. Decreased experimental anxiety and voluntary ethanol consumption in rats following central but not basolateral amygdala lesions. *Brain Res.*, **760(1-2)**: 94-101, 1997.
- MOLLER, C.; WIKLUND, L.; THORSELL, A.; HYYTIA, P.; HEILIG, M. Decreased measures of experimental anxiety in rats bred for high alcohol preference. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **21(4)**: 656-660, 1997.
- MORATO, G.S.; KHANNA, J.M. N-metil-D-aspartate receptors, nitric oxide, and ethanol tolerance. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, **29**: 1415-1426, 1996.
- MUCHA, R.F.; IVERSEN, S.D. Reinforcing properties of morphine and naloxone revealed by conditioned place preference: a procedural examination. *Psychopharmacology*, **82**: 241-247, 1984.
- MULLANEY, J.A.; TRIPPETT, C.J. Alcohol dependenc and phobias: clinical description and relevance. *Brit. J. Psychiat.*, **135**: 565-573, 1979.

- NABESHIMA, T.; YAMAGUCHI, K.; YAMADA, K.; HIRAMATSU, M.; KUWABARA, Y.; FURUKAWA, H.; KAMEYANA, T. Sex-dependent differences in the pharmacological actions and pharmacokinetics of phencyclidine in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **97**: 217-227, 1984.
- NAKAGAWA, Y.; IWASAKI, T. Involvement of benzodiazepine/GABA-A receptor complex in ethanol-induced state-dependent learning in rats. *Brain Res.*, **686**: 70-76, 1995.
- NEVO, I.; HAMON, M. Neurotransmitter and neuromodulatory mechanisms involved in alcohol abuse and alcoholism. *Neurochem. Int.*, **26**: 305-336, 1995.
- NUMAN, R. Multiple exposures to ethanol facilitate intravenous self-administration of ethanol in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **15**: 101-108, 1981.
- NUMAN, R.; NAPARZEWSKA, A.M.; ALDER, C.M. Absence of reinforcement with low dose intravenous ethanol self-administration in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **21**: 609-615, 1984.
- OVERTON, D.A. State-dependent learning produced by alcohol and its relevance to alcoholism. In: *The biology of alcoholism*, vol. II. B. Kissin, H. Begleiter, eds., pp. 193-217. New York: Plenum Press, 1972.
- PARKER, E.S.; ALKANA, R.L. Effects of ethanol on memory storage process. *Neurosci. Abst.*, **3**: 299, 1977.
- PARKER, E.S.; BIRNBAUM, I.M.; NOBLE, E.P. Alcohol and memory: Storage and state dependency. *J. Verb. Learn. Verb. Behav.*, **15**: 691-702, 1976.
- PARKER, E.S.; BIRNBAUM, I.M.; WEINGARTNER, H.; HARTLEY, J.T.; STILLMAN, R.C.; WYATT, R.J. Retrograde enhancement of human memory with alcohol. *Psychopharmacology*, **69**: 219-222, 1980.
- PARROT, A.C.; KENTRIGDE, R. Personal constructs of anxiety under the 1,5-benzodiazepine derivative clobazam related to trait-anxiety levels of the personality. *Psychopharmacology*, **78**: 353-357, 1982.

- PAVLOV, I.P. Conditioned reflexe (Oxford, Oxford University Press), 1927.
- PERIO, A.; TERRANOVA, J.P.; WORMS, P.; BLUTHE, R.M.; DANTZER, R.; BIZIERE, K. Specific modulation of social memory in rats by cholinomimetic and nootropic drugs, by benzodiazepine inverse agonists, but not by psychostimulants. *Psychopharmacology*, **97**: 262-268, 1989.
- PIAZA, P.V.; DEMINIÈRE, J-M.; Le MOAL, M.; SIMON, H. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science*, **245**: 1511-1513, 1989.
- PICKENS, R.W.; SVIKIS, D.S. Biological vulnerability to drug abuse. NIDA Research Monograph 89, Rockville, 1988.
- PIERCE D. R.; SERBUS D.C.; LIGHT, K.E. Intra-gastric intubation of alcohol during postnatal development of rats results in selective cell loss in the cerebellum. *Alcoholism. Clin. Exp. Res.*, **17**: 1275-1280, 1993.
- PLOEGER, G.E.; WILLEMEN, A.P.M.; COOLS, A.R. Role of the nucleus accumbens in social memory in rats. *Brain Res. Bull.*, **26**: 23-27, 1991.
- POHORECKY, M.A. The interaction between alcohol and stress: A review. *Neurosci. Biol. Behav. Rev.*, **5**: 209-229, 1981.
- POPIK, P.; VETULANI, J. Opposite action of oxytocin and its peptide antagonists on social memory in rats. *Neuropeptides*, **18**: 23-27, 1991.
- POSTMAN, L. Transfer, interference and forgetting. In: Woodworth and Schlosberg's experimental psychology, vo II, Learning, memory and motivation. j.w. kling, I.a.. Riggs, eds., pp 1019-1132. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1972.
- RABIN, R.A.; BAKER, R.C.; DIETRICH, R.A. Specificity of the action of ethanol in the central nervous system: Behavioral effects. *Alcohol Alcohol.*, **1**: 133-138, 1987.

- REGIER, D.A.; FARMER, M.; RAE, D.; LOCKE, B.; KEITH, S.; JUDD, L.; GOODWIN, F. Comorbidity of metal disorders with alcohol and drug abuse. *J. Am. Med. Assoc.*, **240**: 2511-2518, 1990.
- REID, L.D.; HUNTER, G.A.; BEAMAN, C.M.; HUBBELL, C.L. Toward understanding ethanol's capacity to be reinforcing: a conditioned place preference following injections of ethanol. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **22**: 483-487, 1985.
- RIBEIRO, R.L. Modulação da memória e da ansiedade pelos receptores benzodiazepínicos. Monografia apresentada ao Curso de especialização em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.
- RILEY, J.N.; WALKER, D.W. Morphological alterations in hippocampus after long-term alcohol consumption in mice. *Science*, **201**: 646-648, 1978.
- RISINGER, F.O.; DICKINSON, S.D.; CUNNINGHAM, C.L. Haloperidol reduces ethanol-induced motor activity stimulation but not place preference. *Psychopharmacology*, **107**: 453-456, 1992.
- ROGÉRIO, R.; TAKAHASHI, R.N. Anxiogenic properties of cocaine in the rat evaluated with the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **43**: 631-633, 1992.
- ROSSELE, G.A.; MENDENHALL, C.L.; CHEDID, A.; MORITS, T.M.; GARTSIDE, P. AND THE VETERANS AFFAIRS COOPERATIVE STUDY GROUPS 119 AND 127. Alcohol modulation of immune function: clinical and experimental data. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **19(3)**: 551-554, 1995.
- ROUNSAVILLE, B.J.; KOSTEN, T.R.; WEISSMAN, M.M.; PRUSOFF, B.A.; PAULS, D.; ANTON, S.F.; MERIKANGAS, K. Psychiatric disorders in the relatives of probands with opioid addiction. *Arch. Gen. Psychiatry*, **36**: 733-782, 1991.
- SAWYER, T.F.; HENGELHOLD, A.K.; PEREZ, W.A. Chemosensory and hormonal mediation of social memory in male rats. *Behav. Neurosci.*, **98**: 908-913, 1984.

- SCALIA, F.; WINAUS, S.S. *Journal of Comparative Neurology*, **161**: 31-56, 1977.
- SCHUCKIT, M.A.; KLEIN, J.; TWITCHELL, G.; SMITH, T. Personality test scores as predictors of alcoholism almost a decade later. *Am. J. Psychiatry*, **151**: 1038-1042, 1994.
- SCHUCKIT, M.A.; HESSELBROCK, V. Alcohol dependence and anxiety disorders: what is the relationship? *Am. J. Psychiatry*, **151**: 1723-1734, 1994.
- SEKIGUCHI, R.; WOLTERINK, G.; VAN REE, J.M. Analysis of the influence of vasopressin neuropeptides on social recognition in rats. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **1**: 123-126, 1991.
- SEKIGUCHI, R.; WOLTERINK, G.; VAN REE, J.M. Short duration of retroactive facilitation of social recognition in rats. *Physiol. Behav.*, **50**: 1253-1256, 1991.
- SHEFNER, S. *Biochemistry and physiology of substance abuse. Electrophysiological effects of ethanol on brain neurons.* Boca Raton. FL: CRC Press, 1990.
- SHERMAN, J.E.; JORENBY, D.E.; BAKER, T.B. Classical conditioning with alcohol: acquired preferences and aversions, tolerance, and urges, craving. In: Chaudron, C.D.; Wilkenson, D.A. (ed.) *Theories on alcoholism.* Addiction Res. Found., Toronto, 1988.
- SHIPPENBERG, T.S.; HEIDBREder, CH. Sensitization to the conditioned rewarding effects of cocaine: pharmacological and temporal characteristics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **273**: 808-815, 1995.
- SHOAIB, M.; STOLERMAN, I.P.; KUMAR, R. Nicotine-induced place preferences following prior nicotine exposure in rats. *Psychopharmacology*, **113**: 445-452, 1994.
- SKINNER, H.A. Identification of alcohol abuse using laboratory tests and a history of trauma. *Ann. Int. Med.*, **101**: 847-851, 1984.

- SMAIL, P.; STOCKWELL, T.; CANTER, S.; HODGSON, R. Alcohol dependence and phobic anxiety states. I. A prevalence study. *Brit. J. Psychiat.*, **144**: 53-57, 1984.
- SOLOMON, P.; PATCH, V.D. Manual de psiquiatria. solomon, P. and Patch, V.D.(eds.), Azzi, E. and Pratarotti, A.R. (trad.) São Paulo: Atheneu Ed. Universidade de São Paulo, 1975.
- SPANAGEL, R.; MONTKOWSKI, A.; ALLINGHAM, K.; STÖHR, T.; SHOAI, M.; HOLSBOER, F.; LANDGRAF, R. Anxiety: a potential predictor of vulnerability to the initiation of ethanol self-administration in rats. *Psychopharmacology*, **122**: 369-373, 1995.
- SPYRAKI, C.; FIBIGER, H.C.; PHILLIPS, A.G. Cocaine-induced place preference conditioning: Lack of effects of neuroleptics and 6-hydroxydopamine lesions. *Brain Res.*, **253**: 195-203, 1982.
- SPYRAKI, C.; FIBIGER, H.C.; PHILLIPS, A.G. Attenuation by haloperidol of place preference conditioning using food reinforcement. *Psychopharmacology*, **77**: 379-382, 1982.
- STEWART, R.B. Neurobiology of conditioning to drugs of abuse, *Annals of the New York Academy of Sciences*, **654**: 335-346, 1992
- STEWART, R.B.; GATTO, G.J.; LUMENG, L.; LI, T.K.; MURPHY, J.M. Comparison of alcohol preferring (P) and non-preferring (NP) rats on tests of anxiety and for the anxiolytic effects of ethanol. *Alcohol*, **10(1)**: 1-10, 1993.
- STEWART, R.B.; GRUPP, L.A. An investigation of the interaction between the reinforced properties of food and ethanol using the place preference paradigm. *Prog. Neuropsychopharmacol.*, **5**: 609-613, 1981.
- STEWART, R.B.; MURPHY, J.M.; McBRIDE, W.J.; LUMENG L.; Li, T.K. Place conditioning with alcohol in alcohol-preferring and non-preferring rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **53(3)**: 487-491, 1996.



- STINCHCOMB, A.; BOWERS, B.J.; WEHNER, J.M. The effects of ethanol and RO 15-4513 on elevated plus-maze and rota-rod performance in long-sleep and short-sleep mice. *Alcohol*, **6**: 369-376, 1989.
- STOLERMAN, I. Drugs of abuse: behavioral principles, methods and terms. *TIPS*, **13**: 170-176, 1992.
- SWERDLOW, N.R.; AMALRIC, M.; KOOB, G.F. Nucleus accumbens opiate-dopamine interactions and locomotor activation in the rat: evidence for a pre-synaptic locus. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **26**: 765-769, 1987.
- TERUEL, F.A.; ESCORIHUELA, R.M.; NUNEZ, N.F.; ZAPATA, A; BOIX, F.; SALAZAR, W.; TOBENA, A. The early acquisition of two-way (shuttle-box) avoidance as an anxiety-mediated behavior: psychopharmacological validation. *Brain Res. Bull.*, **26(1)**: 173-176, 1991.
- THOR, D.H.; HOLLOWAY, W.R. Persistence of social investigatory behavior in the male rat: Evidence for long-term memory of initial copulatory experience. *Anim. Learn. Behav.*, **9**: 561-565, 1981.
- THOR, D.H.; HOLLOWAY, W.R. Social memory of the male laboratory rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **96**: 1000-1006, 1982.
- VAN DER KOOY, D. Place conditioning: A simple and effective method for assessing the motivational properties of drugs. In: BOZARTH, M.A., ed. *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. New York: Springer-Verlag, 229-240, 1987.
- VAN DER KOOY, D.; O'SHAUGHNESSY, M.; MUCHA, R.F.; KALANT, H. Motivation properties of ethanol in naive rats as studied by place conditioning. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **19**: 441-445, 1983.
- WEISS, K.J.; ROSEMBURG, D.J. Prevalence of anxiety disorder among alcoholics. *J. Clin. Psychiat.*, **46**: 3-5, 1985.
- WESNER, R.B. Alcohol use and abuse secondary to anxiety. *Psychiat. Clin. North. Am.*, **13**: 699-713, 1990.

- WHITE, N.M. Addictive drugs as reinforcers: multiple partial actions on memory systems. *Addiction*, **91(7)**: 921-949, 1996.
- WHITE, N.M.; MESSIER, C.; CARR, G.D. Operationalizing and measuring the organizing influence of drugs and behavior. In: BOZARTH, M.A. (Ed.) *Methods of Measuring the Reinforcing Properties of abused drugs*, pp. 591-618 (New York, Springer-Verlag), 1987.
- WIED, D. Pituitary-adrenal system hormones and behavior. In: *The neurosciences*. F.O. Schmitt, F.G. Worden, eds., pp. 653-666. Cambridge, Mass: MIT Press, 1974.
- WILSON, G.T.; ABRAMS, D.B. Effects of alcohol on social anxiety and physiological arousal: cognitive versus pharmacological processes. *Cognitive Ther. Res.*, **1**: 195-210, 1977.
- WISE, C.D.; STEIN, L. Amphetamine: facilitation of behavior by augmented release of norepinephrine from the medial forebrain bundle, in: Costa, E.; Garattini, S. (Eds.) *Amphetamines and related compounds*, pp. 463-485 (New York, Raven Press), 1970.
- WISE, C.D.; BAUCO, P.; CARLEZON Jr, W.A.; TROJNIAR, W. Self-stimulation and drug reward mechanisms, *Annals of the New York Acad. Sci.*, **654**: 192-198, 1992.
- WISE, R.A. The role of reward pathways in the development of drug dependence. *Pharm. Ther.*, **35**: 227-263, 1987.
- WOLFMAN, C.; Da CUNHA, C.; JERUSALINSKI, D.; LEVI De STEIN, M.; VIOLA, H.; IZQUERDO, I.; MEDINA, J.H. Habituation and inhibitory avoidance training after brain regional levels of benzodiazepine-like molecules and are affected by intracerebral flumazenil microinjection. *Brain Res.*, **548**: 74-80, 1991.
- WOODRUFF, R.A.; GUZE, S.B.; CLAYTON, P.J. Anxiety neurosis among psychiatric out patients. *Compreh. Psychiat.*, **13**: 165-170, 1972.

YOSHIMOTO, K.; McBRIDE, W.J.; LUMENG, L.; LI, T.K. Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. *Alcohol*, **9**: 17-22, 1992.

ZANIN, M.; TAKAHASHI, R.N. Sex difference in sensitization to the locomotor effects of mazindol in rats. *Brain Res. Bull.*, **34**: 385-387, 1994.

ZHOU, F.C.; ZHANG, J.K.; LUMENG, L.; LI, T.K. Mesolimbic system in Alcohol-Preferring rats. *Alcohol*, **12(5)**: 403-412, 1995.