

**CONSUMO DE ETANOL EM *BINGE*
PREJUDICA A MEMÓRIA OPERACIONAL
ESPACIAL DE RATOS ADOLESCENTES E
JOVENS ADULTOS**

MATHEUS CAVATTI SANTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
Vitória, Setembro de 2020**

MATHEUS CAVATTI SANTOS

**CONSUMO DE ETANOL EM *BINGE* PREJUDICA A MEMÓRIA
OPERACIONAL ESPACIAL DE RATOS ADOLESCENTES E
JOVENS ADULTOS**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Fisiológicas do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade
Federal do Espírito Santo, como parte
dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Ciências
Fisiológicas.

Área de concentração:
Neurociências

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Livia Carla de
Melo Rodrigues

Vitória
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Centro de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

**REGISTRO DE JULGAMENTO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO
CANDIDATO AO TÍTULO DE MESTRE PELO PPGCF/CCS/UFES**

Nº de Matrícula do(a) Candidato(a): 2018132271

A Comissão Julgadora que examinou a Dissertação de Mestrado, intitulada "Consumo De Etanol Em Binge Prejudica A Memória Operacional Espacial De Ratos Adolescentes E Jovens Adultos", apresentada e defendida publicamente pelo aluno Matheus Cavatti Santos, no dia 04 de dezembro de 2020, às 14h, decidiu, por unanimidade, aprovar a referida Dissertação de Mestrado e, portanto, declara que o aluno faz jus a obtenção do Título Mestre em Ciências Fisiológicas.

Vitória – ES, 04 de dezembro de 2020.

**Prof.^a Dr.^a Livia Carla de Melo Rodrigues
(Orientadora)**

**Prof.^a Dr.^a Rosana Suemi Tokumaru
(Membro Externo)**

**Prof.^a Dr.^a Sonia Alves Gouvea
(Membro Interno)**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

S237c Santos, Matheus Cavatti, 1992-
Consumo de etanol em binge prejudica a memória
operacional espacial de ratos adolescentes e jovens adultos /
Matheus Cavatti Santos. - 2020.
77 f. : il.

Orientadora: Livia Carla de Melo Rodrigues.
Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da
Saúde.

1. Neuropsicofarmacologia. I. Rodrigues, Livia Carla de
Melo. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de
Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 612

Dedico este trabalho a todos e todas que lutam e morrem por uma sociedade mais equalizada, sem mesmo saber de seu impacto na vida do mais próximo.

“The measure of a life, is a measure of love and respect. So hard to earn, so easily burned. In the fullness of time, a garden to nurture and protect.”

Neil Peart (trecho de “The Garden” pela banda Rush)

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento primário vai à natureza, pela permissão da propriocepção existencial, do raciocínio e da contemplação, na possibilidade em explorá-la, entendê-la e admirá-la, na construção de um tipo de conhecimento.

Aos meus progenitores, Amélia e Raimundo, que sempre se dispuseram a fazer o que estava ao alcance para que este momento fosse realizado.

À minha professora, orientadora e querida amiga Livia, que me aguentou nesses últimos anos, desde a graduação, dando todo o suporte emocional, organizacional e científico, para que eu não só pudesse me qualificar profissionalmente, mas também ser alguém mais compreensivo, responsável e atento ao meu redor.

Aos meus amigos, muito mais que de laboratório, Igor e Matheus Loureiro, que fizeram esses turbulentos dois últimos anos passarem de forma muito mais branda. Igor por toda sua capacidade de discordar em quase tudo comigo, menos sobre David Bowie e Slipknot, e ainda assim manter uma amizade de piadas internas, respeitáveis debates acalorados e muita cumplicidade. E o Loureiro por ser o cara que sofreu junto, me fez rir das besteiras mais imbecis, bebeu mais “litirão” de Devassa e cantou sertanejo no bar comigo, além de sacrificar seu tempo e sua saúde mental bem ansiosa pra me ajudar de forma irrecompensável. Agradeço demais por esses irmãos mais novos que eu ganhei.

A todos(as) companheiros(as) de laboratório, principalmente a Juliana e Celina, que deram um suporte técnico e moral sempre que podiam, além de estarem dispostas a escutar nossos conselhos e aprender. Aos amigos e amigas de pós-graduação, principalmente a galerinha do “Café com Ciência”, Camila, Charles, Duda, Eduardo, Jordana, Oscar, Pollyana, Sabrina, Silas e Thaís que assumiram tanto a responsabilidade de um evento de divulgação científica, das principais tretas internas da pós-graduação e dos “rockzinhos” mais massas que a varandinha já deve ter tido em sua história.

A todos os amigos e amigas que a vida me deu ao longo dos meus anos vividos, e que mesmo nesses dois últimos anos, estiveram presentes sempre alegrando meus dias mais difíceis: Vitão, Paulo Vitor, Forattini, Ana, Lara,

Rodrigo, Maurício, Lala, Arnon, Rodolfo, Capim, Eloi, Fonseca, Vanessa, Julia, Thayara, Juliana, Daniel (meu produça), Thaiane, Greg, Diego, Stefanie, Wesley, Grazi, Daniel (meu amigo), Canni, Luana, Igor, Brunão, Aulus, Lígia e tantos outros que comporiam esta lista quase infinita de agradecimentos.

Por fim, dedico esta aos músicos que me inspiraram a ser quem sou e me ensinaram muito através de versos, harmonias, melodias e rítmicas, em especial ao meu músico favorito que faleceu no início deste trágico ano de 2020. Neil “The Professor” Peart (*in memoriam*), um baterista, um percussionista, um compositor, um escritor, um poeta, um gênio, que foi abatido ironicamente por um câncer no cérebro, e será sempre lembrado em tudo que eu fizer. Sempre que eu estiver escrevendo, compondo, cantando, tocando percussões, ou até dando uma palestra, você estará comigo, pois sua influência perpassa qualquer barreira tangente que limita as interações no mundo. Muito obrigado.

SUMÁRIO

RESUMO.....	I
ABSTRACT	II
LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE TABELAS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS.....	V
<u>1. INTRODUÇÃO</u>	15
<u>1.1</u> Epidemiologia do álcool etílico	15
<u>1.2</u> Sistema de Recompensa Cerebral e a Via Dopaminérgica Mesolimbocortical.....	19
<u>1.3</u> O Lobo Frontal e o Córtex Pré-Frontal	23
<u>1.4</u> Memória Operacional	30
<u>1.5</u> Justificativa	33
<u>2. OBJETIVOS</u>	34
<u>2.1</u> Geral	34
<u>2.2</u> Específicos	34
<u>3. MATERIAIS E MÉTODOS</u>	35
<u>3.1</u> Animais	35
<u>3.2</u> Drogas	35
<u>3.3</u> Paradigma de avaliação da Memória Operacional Espacial – o labirinto radial de oito braços (LR-8).....	36
<u>3.4</u> Desenho experimental	39
<u>3.5</u> Análise estatística.....	40
<u>4. RESULTADOS</u>	42
<u>4.1</u> Aquisição da tarefa.....	42
<u>4.1.1</u> Antes da introdução dos retardos de 5 s (fase 3)	42
<u>4.1.2</u> Após a introdução dos retardos de 5 s (fase 4).....	44
<u>4.2</u> Desempenho no labirinto radial de oito braços após tratamento em binge agudo e crônico (retardo de 1 h)	46
<u>4.2.1</u> Binge agudo.....	46
<u>4.2.2</u> Binge crônico	48
<u>5. DISCUSSÃO</u>	50
<u>5.1</u> Álcool Etílico e Prejuízo Cognitivo	50
<u>5.2</u> Prejuízo Cognitivo na Adolescência e Juventude	54
<u>5.3</u> Limitações do Estudo	56

<u>6.</u> CONCLUSÃO.....	58
<u>7.</u> REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

RESUMO

A desordem no consumo de álcool etílico (etanol) é um dos principais fatores de risco no desenvolvimento de transtornos neuropsicológicos. O desenvolvimento parcial e incompleto do sistema nervoso central na adolescência, especialmente do córtex pré-frontal (CPF), agrava o comportamento de consumo pesado e episódico de etanol, ou uso em *binge*. As áreas do CPF trabalham de maneira articulada para coordenar funções de alta complexidade como a memória operacional. A memória operacional funciona como um mecanismo que guarda informações temporariamente para modulá-las, no intuito de executar tarefas complexas como processamento da linguagem, aprendizagem e raciocínio. Sendo assim, este estudo é dedicado a compreender efeitos do consumo abusivo de etanol na memória operacional espacial de ratos, através do labirinto radial de oito braços (LR-8). Os animais foram primeiramente treinados no LR-8 para a realização das tarefas. Ao final das fases de treinamento, os animais que atingiram 0 ou 1 erro ao longo de três sessões seguidas estavam aptos para o início do tratamento. Foram assim divididos em dois grupos de acordo com o regime de tratamento, *binge* agudo ou crônico, e subdivididos em quatro grupos de acordo com as doses de etanol recebidas: controle (água destilada), 3g/kg, 6g/kg e 9g/kg de etanol por peso do animal via gavagem intragástrica. Assim que o tratamento foi finalizado, os animais foram conduzidos para realizar os pré- e pós-retardos de 1h, e o número de erros em cada sessão foi analisado. No regime agudo, apenas o grupo que recebeu etanol em 6g/kg teve um prejuízo significativo na tarefa de pós-retardo de 1h. Já no regime crônico, o grupo que recebeu 3g/kg de etanol apresentou significativa redução no desempenho no pré-retardo de 1h comparado ao grupo controle, enquanto no pós-retardo, todos os grupos apresentaram um prejuízo significativo comparado ao grupo controle. Os achados deste estudo revelam que o consumo abusivo de etanol causa prejuízos na memória operacional espacial de ratos jovens, especialmente quando esse consumo é crônico.

Palavras-chave: Álcool em *binge*; córtex pré-frontal; memória operacional; labirinto radial de oito braços.

ABSTRACT

Disorders in alcohol consumption are one of the main risk factors for the development of neurological disorders worldwide. The partial and incomplete full development of the central nervous system during adolescence, especially of the prefrontal cortex (PFC), aggravates the behaviour of heavy and episodic (binge) alcohol consumption. The PFC areas work in an articulate and concurrent way to coordinate highly complex functions, such as working memory. Working memory is a temporary information storage mechanism where such information is modulated to accomplish complex tasks like language processing, learning and reasoning. Therefore, this study is dedicated to understand the effects caused by binge drinking on the spatial working memory of rats assessed by the 8-arm radial maze task. The animals were exposed to the 8-arm radial maze in order to perform the tasks provided for this test. After passing through all the phases, the animals that reach 0 or 1 error for three consecutive trials were eligible to start the treatment. They were divided into two groups according to the treatment schedule, acute or chronic binge, and subdivided into other four groups according to the dosage of alcohol they received: control (received water), 3g/kg, 6g/kg and 9g/kg of ethanol per animal weight via gavage. As soon as the treatment was over, the animals were conducted to perform the pre- and post-one hour delay tasks and had their number of errors evaluated in each trial. In the one-hour delay tasks after the acute treatment, only the group that received 6g/kg of ethanol had a significant impairment in the post-delay trial. In the pre-delay trials for the chronic treatment, the group that received 3g/kg had a significant impairment compared to control, while in the post-delay trials all the groups that received ethanol, 3g/kg, 6g/kg, 9g/kg, had significant performance impairment compared to control. The findings of this study revealed that binge ethanol consumption, especially in a chronic pattern, impairs the spatial working memory of juvenile rats.

Keywords: Binge ethanol; prefrontal cortex; working memory; 8-arm radial maze.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Dados de 2016, da prevalência (em %) de consumidores de etanol em *binge* em meio ao total de consumidores acima de 15 anos de idade. Fonte: Global Status Report on Alcohol and Health (WHO, 2018)

Figura 2: Esquema ilustrativo que apresenta a dose padrão de álcool puro, equivalente à quantidade de cada tipo de bebida alcoólica, baseado nos parâmetros da OMS (2010). Imagem criada pelo autor.

Figura 3: Gráfico representativo da porcentagem de pessoas (12 a 65 anos)/ frequência de uso de álcool, segundo a percepção de risco. No documento oficial, os dados sobre tabagismo também foram incorporados no mesmo gráfico, por isso a presença de dados sobre o consumo de cigarros. Fonte: III Levantamento Nacional Sobre o Uso de Drogas (III LNUD – Fiocruz - 2017).

Figura 4: Esquematização das principais vias dopaminérgicas do circuito de recompensa no cérebro humano. Fonte: Dopaminergic reward system: a short integrative review (Arias-Carrión, 2010).

Figura 5: Esquema da circuitaria dopaminérgica mesolímbica de ratos, que explicita as projeções entre NAcc (NAc na imagem), ATV (VTA na imagem) e CPF (PFC na imagem), com suas conexões glutamatérgicas (azul), dopaminérgicas (vermelho), GABAérgicas (laranja) e orexinérgicas (verde). Fonte: Synaptic plasticity and addiction (Kauer & Malenka, 2007).

Figura 6: Duas imagens esquemáticas de vista lateral do cérebro humano. À esquerda, a região designada como lobo frontal está destacada. À direita, a divisão do cérebro humano de acordo com sua morfofuncionalidade, tendo o lobo frontal subdividido em córtex motor, córtex pré-motor, córtex pré-frontal (CPF) e área de Broca. Fonte: Atlas Colorido de Anatomia Humana (McMinn, 1990) (esquerda); Guyton AC. Neurociência Básica: Anatomia e Fisiologia, 2ªEd. Guanabara Koogan®, 1993 (direita).

Figura 7: Sub-regiões do córtex pré-frontal (CPF) de roedores. a) Secção sagital: 0,9 mm da linha média. b) Secção coronal unilateral: 3,5 mm anterior ao bregma. As diferentes hachuras indicam as principais divisões do CPF de roedores (medial, ventral e lateral). Abreviaturas: ACg (córtex cingulado anterior), AID (córtex agranular insular dorsal), AIV (córtex agranular insular ventral), AOM (núcleo olfatório anterior medial), AOV (núcleo olfatório anterior ventral), cc (corpo caloso), Cg2 (área 2 do córtex cingulado), gcc (joelho do corpo caloso), IL (córtex infralímbico), LO (córtex orbital lateral), M1 (área motora primária), MO (córtex orbital medial), OB (bulbo olfatório), PrL (córtex pré-límbico), PrC (córtex pré-central), VLO (córtex orbital ventrolateral), VO (córtex orbital ventral). Fonte: Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates (Dalley et al., 2004).

Figura 8: Imagens das divisões do CPF de acordo com o mapeamento de Brodmann (1909), nas orientações lateral (A), medial (B) e orbital (C). Nesta imagem pode-se observar as sub-regiões do CPF como a área oculomotora (área 8 de Brodmann), área dorsolateral (áreas 9 e 10), área orbitofrontal lateral (área 10), e cíngulo anterior ou córtex pré-frontal medial (CPFm) (área 24 de Brodmann). Fonte: Neurocognitive mechanisms of cognitive control: The role of prefrontal cortex in action selection, response inhibition, performance monitoring, and reward based learning (Carter et al., 2004).

Figura 9: Imagens de ressonância magnética de cérebro humano, nas orientações lateral direita e superior, que exibe a gradual maturação da substância cinzenta na superfície cortical dos 5 aos 20 anos de idade. A barra lateral representa, em cores, as unidades de volume de substância cinzenta. Fonte: Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood (Gotlib et al., 2004).

Figura 10: Fotografia do Labirinto Radial de Oito Braços (LR8) utilizado nos experimentos comportamentais de memória operacional espacial.

Figura 11: Fluxograma representativo do desenho experimental, que indica cada fase do protocolo em um ponto de vista temporal. Imagem criada pelo autor.

Figura 12: Desempenho (média de erros) dos animais ($n = 96$) nas dez últimas sessões de treinamento na fase III de aquisição da tarefa no labirinto radial de oito braços. **** $p < 0,0001$ comparado às três primeiras sessões.

Figura 13: Desempenho (média de erros) do pré- (gráfico à esquerda) e pós-retardo (gráfico à direita) de 5 s de animais ($n = 96$) na fase 4 do treinamento no labirinto radial de 8 braços. **** $p < 0,0001$ comparados à primeira sessão.

Figura 14: Efeitos da administração aguda via intragástrica de etanol em *binge* nas doses de 3 ($n = 12$), 6 ($n = 11$) e 9g/kg ($n = 9$), sobre o desempenho (média de erros $\pm$ e.p.m.) de animais no pré- e pós-retardo de 1h no labirinto radial de oito braços, comparados aos grupo controle ($n = 12$). ANOVA de uma via pra amostras independentes * $p < 0,05$ na comparação entre grupos.

Figura 15: Efeitos da administração crônica via intragástrica de etanol em *binge* nas doses de 3 ($n = 11$), 6 ($n = 10$) e 9g/kg ($n = 9$), sobre o desempenho (média de erros $\pm$ e.p.m.) de animais no pré- e pós-retardo de 1h no labirinto radial de oito braços, comparados aos grupo controle ($n = 12$). ANOVA de uma via para amostras independentes * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle.

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Média $\pm$ e.p.m. do tempo gasto (em segundos) em cada braço visitado na aquisição da tarefa no labirinto radial de oito braços (n = 96).

Tabela II: Média $\pm$ e.p.m. do tempo gasto (em segundos) em cada braço visitado no desempenho do pré- e do pós-retardo de 5 s, na fase de aprendizagem (n = 96).

Tabela III: Efeitos do etanol em *binge* agudo nas diferentes doses sobre o tempo gasto (segundos) em cada braço visitado no pré- e pós-retardo de 1h (n = 44).

Tabela IV: Efeitos do etanol em *binge* crônico nas diferentes doses sobre o tempo gasto (segundos) em cada braço visitado no pré- e pós-retardo de 1h (n = 42).

LISTA DE ABREVIATURAS

ATV	Área Tegmentar Ventral
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CPF	Córtex Pré-frontal
CPFdl	Córtex Pré-frontal Dorsolateral
CPFm	Córtex Pré-frontal Medial
DA	Dopamina
DSM-IV	4º Manual de Estatísticas e Diagnósticos de Desordens Mentais
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EtOH	Etanol
GABA	Ácido γ -aminobutírico
IG	Gavage Intragástrica
LR-8	Labirinto Radial de Oito Braços
NAcc	Núcleo Accumbens
OMS	Organização Mundial da Saúde
SNC	Sistema Nervoso Central
tDCS	Estimulação por Corrente Direta Transcraniana
TRO	Teste de Reconhecimento de Objetos

INTRODUÇÃO

Epidemiologia do álcool etílico

A desordem no consumo de álcool é um dos principais fatores de risco para a totalidade de doenças mundiais, contabilizando de 6% a 9% dos transtornos mentais, neurológicos e de drogas de abuso (PATEL et al., 2016). No Brasil, o consumo de álcool gera graves transtornos de saúde pública que, em conjunto com o tabaco, se posiciona como a droga mais consumida no país (GALDURÓZ; CAETANO, 2004). Em outro levantamento realizado no país, foi constatado que 74,6% dos indivíduos acima de 12 anos de idade já haviam consumido etanol, e que destes, 12,3% já estão em algum grau de dependência da substância (GALDURÓZ; CARLINI, 2007).

Apesar da estatística já apresentar números alarmantes, existem dois fatores que tornam as atenções ainda mais fortes para a droga: a faixa etária e a forma de consumo. O beber em *binge*, ou “*binge drinking*”, é a expressão utilizada para designar um consumo volumoso de álcool etílico em um curto espaço de tempo e de maneira episódica (KUNTSCHE; REHM; GMEL, 2004). Por volta de 16% das pessoas com pelo menos 15 anos de idade já realizaram esse consumo pesado e episódico do álcool (WHO, 2014). Pessoas jovens consumidoras de álcool, com idade entre 15 e 24 anos, frequentemente consomem de forma pesada e episódica, com prevalência para o sexo masculino (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018) (FIG. 1).

No Brasil, a estatística não se dá de forma diferente, onde mais da metade dos adolescentes do sexo masculino já praticaram o “*binge drinking*” em pelo menos uma ocasião (PINSKY et al., 2010). Além do consumo de álcool ser utilizado e visto como um privilégio social, tanto em questões de gênero quanto em posição socioeconômica (BLOOMFIELD et al., 2006; KAN; LAU, 2013; WILSNACK et al., 2009), a dificuldade de controlar o consumo abusivo se depara também na padronização de doses.

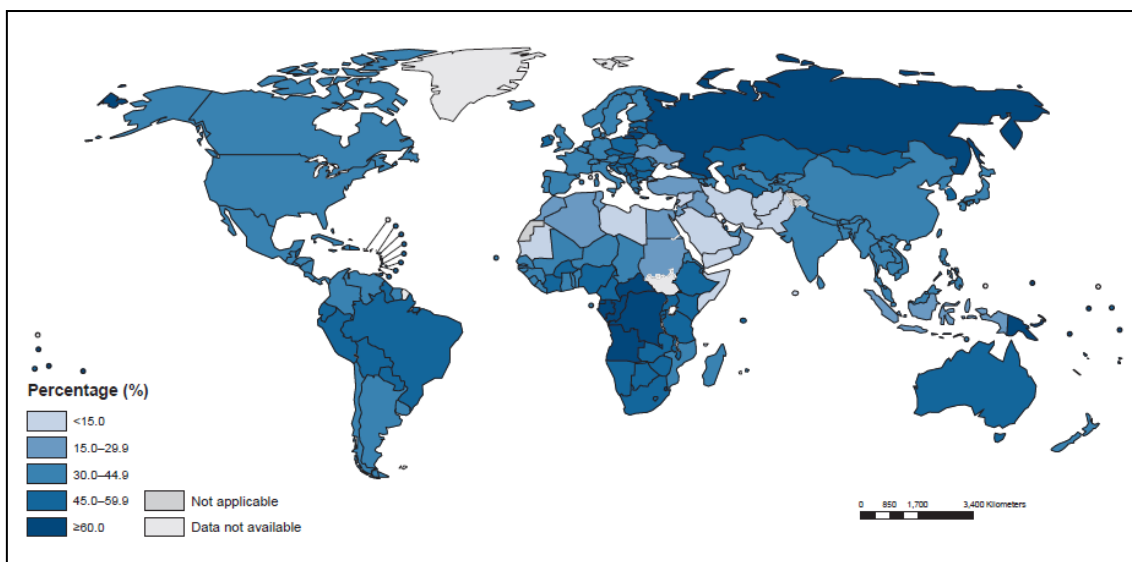


Figura 1. Dados de 2016, da prevalência (em %) de consumidores de etanol em *binge* em meio ao total de consumidores acima de 15 anos de idade. Fonte: Global Status Report on Alcohol and Health (WHO, 2018)

A Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2010, estabeleceu a dose padrão para 10g – 12g de álcool puro, o que equivale a uma lata de cerveja (330 mL a 4%), uma dose de destilado (30 mL a 40%) ou uma taça de vinho (100 mL a 12% ou 70 mL a 18%) (FIG. 2). Apesar dessa padronização, muitos países ainda não modificaram seus parâmetros nacionais, o que torna mais difícil a tentativa de controle do consumo abusivo de álcool e na implementação de políticas públicas para esta contenção. O Japão e a Áustria, por exemplo, tinham a dose padrão de álcool puro em 20g, e o Brasil em 14 g, ainda no ano de 2014 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010, 2014).

Essas doses servem de parâmetro para indicar se o indivíduo está consumindo bebida alcoólica em níveis nocivos, apesar do consumo de qualquer quantidade não ser considerada livre de riscos. Para a OMS, o consumo de 2 doses de álcool puro/dia é o limítrofe deste risco, que pode ser alterado de acordo com a condição de saúde de cada indivíduo. No caso do *binge*, este consumo se dá em pelo menos 5 a 6 doses de álcool, respeitando o regime temporal deste tipo de consumo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010, 2018).



Figura 2. Esquema ilustrativo que apresenta a dose padrão de álcool puro, equivalente à quantidade de cada tipo de bebida alcoólica, baseado nos parâmetros da OMS (2010). Imagem criada pelo autor.

No Brasil, aproximadamente 2,3 milhões de pessoas, entre 12 e 65 anos, preencheram os critérios do DSM-IV para dependência de álcool. Isso representa 1,5% dos indivíduos da população analisados na pesquisa e 3,5% dos indivíduos que consumiram álcool no último Levantamento Nacional Sobre o Uso de Drogas. Observa-se que mais de 80% dos indivíduos entre 12 e 65 anos considera o consumo de álcool etílico quase que diário em altas doses (de 4 a 5 doses de bebidas alcoólicas) um risco grave à saúde. Entretanto, apenas metade dos indivíduos tem a percepção de risco grave à saúde no consumo em *binge* de modo mais esporádico (1 a 2 vezes por semana), resultado estatisticamente similar aos que consideram este comportamento como risco leve/moderado à saúde (FIG. 3) (BASTOS et al., 2017).

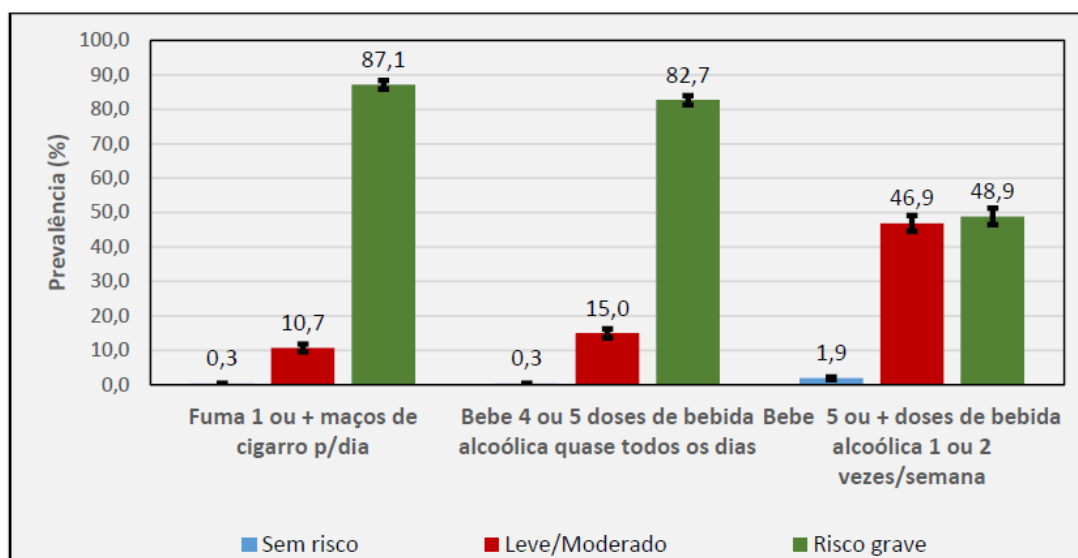


Figura 3. Gráfico representativo da porcentagem de pessoas (12 a 65 anos) / frequência de uso de álcool, segundo a percepção de risco. No documento oficial, os dados sobre tabagismo também foram incorporados no mesmo gráfico, por isso a presença de dados sobre o consumo de cigarros. Fonte: III Levantamento Nacional Sobre o Uso de Drogas (III LNUD – Fiocruz - 2017).

O agravamento deste consumo abusivo de etanol, quando na adolescência, pode se justificar pelo desenvolvimento incompleto do sistema nervoso central (SNC) nesta faixa etária (PASCUAL, María; MONTESINOS; GUERRI, 2017). Esse processo de desenvolvimento do SNC na adolescência provoca, além de uma adaptação para a vida adulta, permissibilidade para comportamentos de risco (MERRICK et al., 2004). O comportamento de risco pode ser explicado pelos baixos níveis de ansiedade em relação ao perigo (HAEGLER et al., 2010; VAN HAMEL et al., 2007) e mudanças na sensibilidade à recompensa, consequentes da maturação do sistema mesolímbico e frontal (CREWS; HE; HODGE, 2007; PASCUAL et al., 2009) que regulam a resposta entre motivação e ação.

O consumo abusivo e episódico do álcool pode levar a alterações no comportamento, estrutura e fisiologia cerebrais (COURTNEY; POLICH, 2009; HILL et al., 2000; YAN et al., 2015). Comportamento desinibido, comprometimento cognitivo, diminuição dos processos atencionais e da capacidade de julgamento, além da falta de coordenação motora, são

características causadas pelo consumo pesado e episódico do etanol e que estão relacionadas a problemas físicos e psicossociais (NAIMI et al., 2003). Estes danos sociais e de saúde, causados pelo “*binge drinking*” em humanos, foram mais acentuados do que os danos ocasionados pelo consumo contínuo e dependente (MÄKELÄ et al., 2001; MILLER; PLANT; PLANT, 2005).

Sistema de Recompensa Cerebral e a Via Dopaminérgica Mesolimbocortical

O comportamento humano está fundamentalmente ligado a reações sobre estímulos externos, que perpassam pelos sentidos, pensamentos, sensações e necessidades. Este conjunto de estímulos alteram as atitudes e motivações do indivíduo, promovendo uma ação ou reação em alcançar um objetivo, que será denominado recompensa (CHEN; XU, 2010).

O sistema de recompensa cerebral que é composto principalmente por circuitarias neuronais que transmitem dopamina (DA) é desenvolvido e consolidado durante a fase da adolescência (GALVAN, 2010). Apesar de a DA dominar as funções e temas de estudos científicos sobre a sua relação com o comportamento baseado em recompensa (DI CHIARA; BASSAREO, 2007), o sistema de recompensa cerebral também é afetado por outros neurotransmissores como a serotonina (KRANZ; KASPER; LANZENBERGER, 2010) e o GABA (CRUZ et al., 2004; KOOB, 2004), que por sua vez também apresentam função significativa na ação central de drogas como o álcool.

Desde que a dopamina foi descrita como um neurotransmissor central há mais de 60 anos (CARLSSON, 1959; MONTAGU, 1957), seu envolvimento com o controle do movimento foi enfatizado, devido à correlação entre a depleção dopaminérgica no *striatum* e os déficits motores observados na Doença de Parkinson (BERNHEIMER; HORNYKIEWICZ, 1965). Apesar de neurônios dopaminérgicos serem cerca de 1% do total de neurônios no cérebro (ARIAS-CARRIÓN; PÖPPEL, 2007), são considerados elementos essenciais para o sistema de recompensa cerebral e no mecanismo de ação de várias drogas de abuso (DI CHIARA; BASSAREO, 2007; ROSS; PESELOW, 2009), e representa

um efeito extremamente importante no funcionamento do sistema nervoso central.

Nos processos de aprendizagem e memória, por exemplo, ocorrem modificações plásticas nas sinapses, devido à atividade de receptores dopaminérgicos (ARIAS-CARRIÓN; PÖPPEL, 2007; KANDEL, 2001). Considerando a aprendizagem uma mudança de responsividade a estímulos específicos, enquanto memória seria a mudança em nível celular que modularia essa responsividade, evidências demonstram o envolvimento da DA no processo de aprendizagem incentivada por recompensas (PESSIGLIONE et al., 2007; PESSIGLIONE et al., 2006).

No cérebro adulto, a circuitaria dopaminérgica é formada por um grupo de células heterogêneas localizadas no mesencéfalo, diencéfalo e bulbo olfatório (ARIAS-CARRIÓN; PÖPPEL, 2007; BJÖRKLUND; DUNNETT, 2007), apesar da maioria se localizar na região ventral do mesencéfalo. O sistema dopaminérgico mesolímbico inclui a área tegmentar ventral (ATV) que projeta inervações principalmente para o *nucleus accumbens* (NAcc), e também o tubérculo olfatório que inerva o septo pelúcido, a amígdala e o hipocampo. No caso do sistema mesocortical da circuitaria dopaminérgica, as inervações se dão a partir da ATV, em direção aos córtices pré-frontal, cingulado e perirrinal. Devido a esta convergência dos dois sistemas dopaminérgicos na ATV, eles também são chamados coletivamente de sistema mesocorticolímbico (WISE, 2004, 2005) (FIG 4).

A conectividade em série entre NAcc, mesencéfalo e estriado dorsal pode influenciar na transição de comportamentos habituais observados na progressão da dependência química. O estriado dorsal codifica associações entre estímulos relacionados com a droga e respostas comportamentais (GOODMAN; PACKARD, 2016; JOFFE; GRUETER; GRUETER, 2014).

A dopamina se liga a cinco subtipos de receptores metabotrópicos, ou seja, acoplados a uma proteína G responsável por sua ativação, e reunidos em duas famílias agrupadas por suas similaridades estruturais e funcionais: receptores

dopaminérgicos tipo D1 (subtipos D1 e D5), que são mais sensíveis a drogas; e os do tipo D2 (subtipos D2, D3 e D4), que normalmente funcionam como inibidores de seus neurônios-alvo (AYANO, 2016).

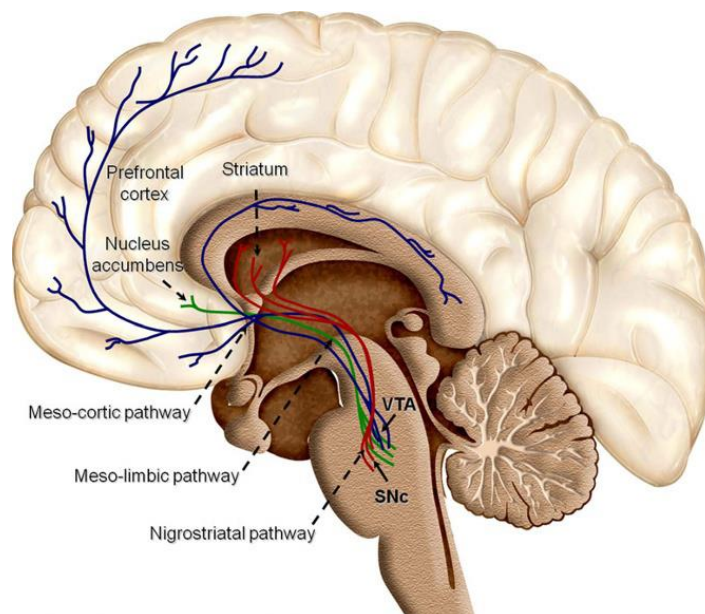


Figura 4. Esquematisação das principais vias dopaminérgicas do circuito de recompensa no cérebro humano. Fonte: Dopaminergic reward system: a short integrative review (ARIAS-CARRIÓN, Oscar et al., 2010).

Apesar da concentração de receptores dopaminérgicos D1 no córtex pré-frontal ser maior (GOLDMAN-RAKIC; MULY III; WILLIAMS, 2000), estudos demonstram que a modulação do desempenho por exemplo de funções como a memória operacional (que será detalhada mais à frente) está mais relacionada a receptores D2 (KIMBERG; D'ESPOSITO; FARAH, 1997; WANG; PICKEL, 2002). Estudos comportamentais também demonstram um papel importante das projeções dopaminérgicas ao *striatum* e CPF na mediação dos efeitos da recompensa no comportamento de aproximação e aprendizagem. Esses resultados foram colhidos através de análise, a partir de lesões em diferentes componentes do sistema dopaminérgico, administração sistêmica e intracerebral de agonistas e antagonistas dopaminérgicos, estimulação elétrica, e autoadministração de drogas de abuso como cocaína, anfetaminas, opióides, nicotina e álcool (SCHULTZ, 2007a, b).

Estudos de nosso laboratório também corroboram a relação da memória operacional com os receptores D2. A administração intracortical da sulpirida, um antagonista de receptores D2, no CPF medial (CPFm) de ratos, neutralizou os efeitos do álcool sobre a memória operacional destes animais. Os animais que receberam as doses de 0,32 µg e 1,0 µg de sulpirida, antes da administração de álcool etílico, apresentaram um menor número de erros no desempenho do labirinto radial de oito braços, após uma latência de 15 dias, sugerindo a interferência dos receptores D2 no CPFm (BENEVIDES, 2007).

A liberação de dopamina estimula também a procura pela sensação de prazer obtida com o uso da droga, o que faz com que o usuário volte a fazer o uso da substância responsável por essa sensação. Dessa forma, quanto maior a capacidade de indução da dependência química, maiores serão os esforços do usuário para consegui-la novamente (NESTLER, 2001).

Dependência química é uma condição neurobiológica, causada pelo abuso repetitivo de substâncias que corrompem o sistema de recompensa e comportamentos adaptativos, que promovem mudanças neuroplásticas (ARIAS-CARRIÓN et al., 2010). A maioria dos achados indicam que drogas de abuso compartilham a característica de aumentar o funcionamento dopaminérgico no mesencéfalo, principalmente nos terminais do NAcc (DI CHIARA; IMPERATO, 1988; OLIVE et al., 2001). Em contraste, o etanol afeta primariamente o funcionamento de receptores GABA, que são os principais receptores inibitórios do cérebro (KUMAR et al., 2009) e reduzem a atividade de disparo de neurônios da substância nigra (MEREU; GESSA, 1985) (FIG 5).

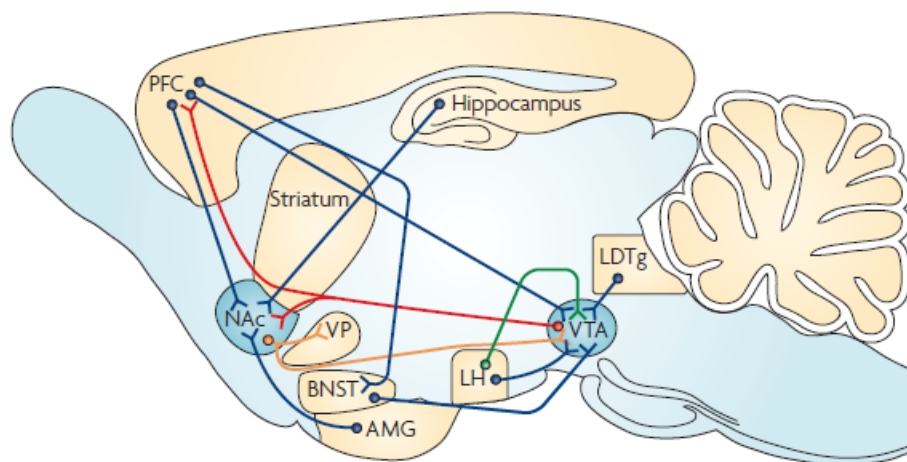


Figura 5. Esquema da circuitaria dopaminérgica mesolímbica de ratos, que explicita as projeções entre NAcc (NAc na imagem), ATV (VTA na imagem) e CPF (PFC na imagem), com suas conexões glutamatérgicas (azul), dopaminérgicas (vermelho), GABAérgicas (laranja) e orexinérgicas (verde). Fonte: Synaptic plasticity and addiction (KAUER; MALENKA, 2007).

Durazzo et al. (2011) demonstraram anormalidades morfológicas em regiões de regulação/modulação das emoções, comportamento e processo de recompensa, em pacientes com transtorno no uso de álcool. Os resultados indicaram a importância em examinar a espessura e a área de superfície corticais para compreender melhor essas anormalidades, como a perda do volume cortical em dependentes de álcool. Foi identificado que tanto os dependentes que recaíram quanto os abstinentes apresentam uma espessura cortical menor na região relacionada ao sistema de recompensa, comparado aos indivíduos controle. Além disso, os pacientes que recaíram constantemente demonstraram uma superfície e um volume mais baixos nas regiões do sistema de recompensa cerebral, como amígdala, hipocampo e no giro frontal superior, em ambos hemisférios (DURAZZO et al., 2011).

O Lobo Frontal e o Córtex Pré-Frontal

Anatomicamente, o lobo frontal (FIG. 6) compreende a porção anterior do hemisfério cerebral; estende-se do polo frontal ao sulco central e é limitado inferiormente pelo sulco lateral ou fissura de Sylvius (ADAMS; VICTOR;

ROPPER, 1997; ERHART, 1972). Sua relação com as funções intelectuais e cognitivas são datadas desde a Grécia antiga, com um pensamento que se perpetua pelo Renascimento e período Iluminista (DUFFY; CAMPBELL, 1994).

A citoarquitetura do lobo frontal pode ser dividida em três porções, os córtices motor e pré-motor, com localização mais posterior e responsáveis pela função motora (movimento) e em córtex pré-frontal (CPF), situado mais rostralmente, anterior ao sulco pré-central, que ao ser estimulado eletricamente, não produz movimento ou sensações sensoriais (ADAMS; VICTOR; ROPPER, 1997; KOLB, 1984). Outra forma de se dividir as regiões do lobo frontal é de acordo com o mapa citoarquitetônico de Brodmann (1909). Segundo esta classificação, a área 4 do mapa, o giro pré-central, é a área motora primária. A área 6 e a parte posterior da área 8 compõem a área pré-motora. As áreas 44 e 45, conhecidas como “área da Broca” são consideradas partes da área pré-motora (JOUANDET; GAZZANIGA, 1979). Lesões na região da “área da broca” podem causar *afasia motora*, isto é, perda da habilidade para efetuar os movimentos coordenados necessários a fala (ERHART, 1972). A parte anterior da área 8 representa os campos visuais frontais e está envolvida nos reflexos visuais como dilatação e constrição da pupila. As demais áreas do lobo frontal formam o córtex pré-frontal (STUSS; BENSON, 1984).

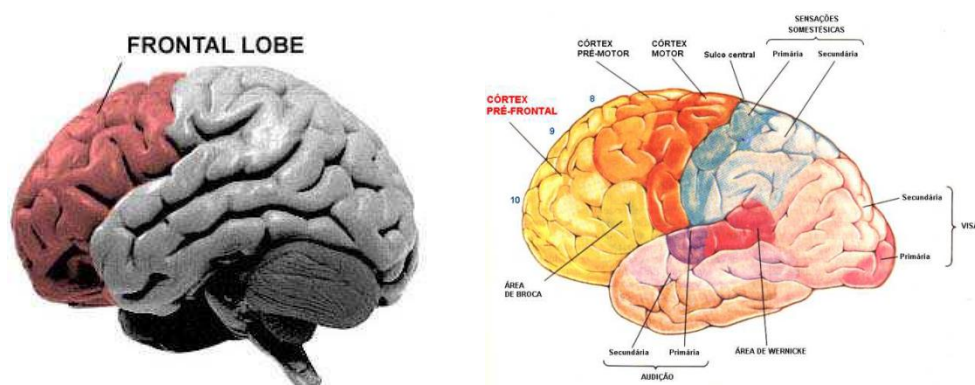


Figura 6. Duas imagens esquemáticas de vista lateral do cérebro humano. À esquerda, a região designada como lobo frontal está destacada. À direita, a divisão do cérebro humano de acordo com sua morfofuncionalidade, tendo o lobo frontal subdividido em córtex motor, córtex pré-motor, córtex pré-frontal (CPF) e área de Broca. Fonte: Atlas Colorido de Anatomia Humana (McMinn, 1990) (esquerda); Guyton AC. Neurociência Básica: Anatomia e Fisiologia, 2ªEd. Guanabara Koogan ®, 1993 (direita).

O CPF é uma área do cérebro ligada a um conjunto de processos neuropsicológicos, relacionados à aquisição de conhecimento e compreensão, que vão desde lembranças, julgamento e solução de problemas, até linguagem, aprendizagem e planejamento (FUSTER, 2001; NAKAMURA-PALACIOS; LEVIN, 2011; WOOD; GRAFMAN, 2003). À medida que a filogenia se aproxima à espécie *Homo sapiens*, é identificado um aumento do volume do CPF. Em primatas não-humanos, a estrutura do CPF constitui cerca de 11% a 17% da região cortical, enquanto em humanos esta proporção está em torno de 29%. Este aumento relativo do tamanho do CPF em humanos indica-o como um substrato para as funções cognitivas de ordem superior (FUSTER, 2008).

Historicamente, o CPF foi ganhando importância à medida que suas funções e participações no sistema nervoso central foram descobertas. Desde a função de supervisão e controle das demais áreas do cérebro, como uma unidade integrativa (LURIA, 1981), aliada a um planejamento da execução de movimentos e fatores afetivos (DAMÁSIO et al., 1994), o CPF culmina como uma região responsável por monitorar não só as informações corticais internas, quanto informações extra-sensoriais, que permitem esta “consciência” como uma percepção da própria existência em relação ao meio externo (NAKAMURA-PALACIOS; LEVIN, 2011).

O córtex pré-frontal de roedores não pode ser definido pelas mesmas características neuromorfológicas de primatas. Por muito tempo foi considerada a inexistência dessa região cortical em mamíferos não-primatas, devido à ausência de um córtex granular nesses animais (UYLINGS, Harry B.M.; GROENEWEGEN; KOLB, 2003). Porém, mesmo com a característica agranular do córtex desses animais, uma projeção robusta do núcleo mediodorsal do tálamo (NMDT) para o CPF corresponde como algo em comum entre diversas espécies de mamíferos de pequeno, médio e grande porte. Sendo assim, foi proposto que o CPF de roedores corresponderia a esta região comum (ROSE; WOOLSEY, 1948; UYLINGS, Harry B.M.; GROENEWEGEN; KOLB, 2003).

Após o refinamento de técnicas e levantamento de informações morfofuncionais, um maior detalhamento das estruturas corticais de roedores foi feito. Análise das características de conexões específicas, propriedades eletrofisiológicas, ontogenia, presença e distribuição de receptores para neurotransmissores e características comportamentais, permitiu que o CPF de roedores fosse subdividido comparativamente com o de primatas. Portanto, em roedores, o CPF pode ser subdividido em áreas infralímbica (IL), pré-límbica (PrL), cíngulo anterior, ventral e dorsal (ACg ou Cg1, ACd e Cg2); área pré-central (Fr2 ou PrC), área orbital (medial - MO, ventral - VO, ventrolateral- VLO e lateral - LO); e em área agranular insular ventral e dorsal (AIV e AID) que compõe o córtex gustatório (FIG. 7) (DALLEY; CARDINAL; ROBBINS, 2004; UYLINGS; GROENEWEGER; KOLB, 2003; VERTES, 2002).

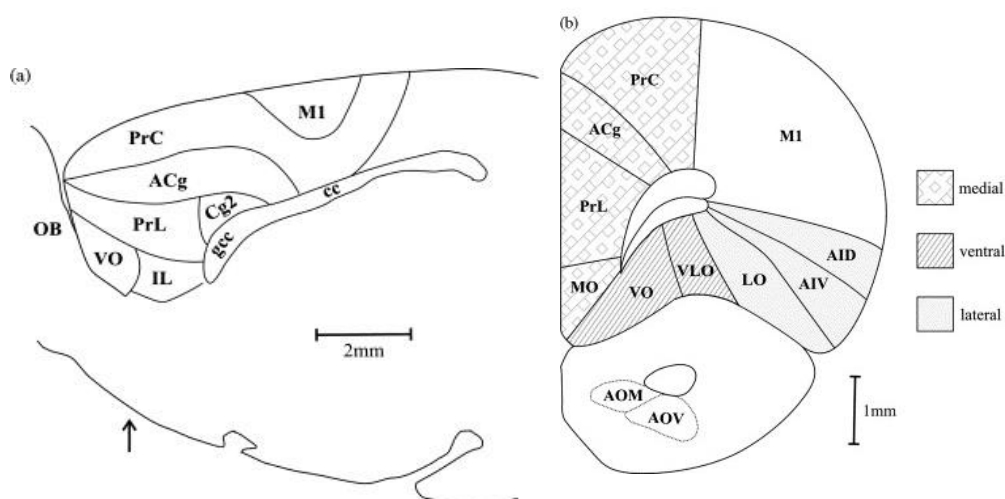


Figura 7. Sub-regiões do córtex pré-frontal (CPF) de roedores. a) Secção sagital: 0,9 mm da linha média. b) Secção coronal unilateral: 3,5 mm anterior ao bregma. As diferentes hachuras indicam as principais divisões do CPF de roedores (medial, ventral e lateral). Abreviaturas: ACg (córtex cíngulo anterior), AID (córtex agranular insular dorsal), AIV (córtex agranular insular ventral), AOM (núcleo olfatório anterior medial), AOV (núcleo olfatório anterior ventral), cc (corpo caloso), Cg2 (área 2 do córtex cíngulo), gcc (joelho do corpo caloso), IL (córtex infralímbico), LO (córtex orbital lateral), M1 (área motora primária), MO (córtex orbital medial), OB (bulbo olfatório), PrL (córtex pré-límbico), PrC (córtex pré-central), VLO (córtex orbital ventrolateral), VO (córtex orbital ventral). Fonte: Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates (DALLEY; CARDINAL; ROBBINS, 2004).

Outras características comuns entre o CPF de roedores e de primatas são as amplas conexões com os córtex pré-motor, somatossensorial, auditivo, visual, olfatório, gustativo e região límbica, que indicam um envolvimento em diversas funções e aspectos do comportamento (UYLINGS; EDEN, 1990).

A porção medial do córtex pré-frontal (CPFm) de roedores faz parte de uma rede de interconexões neuronais denominada de circuitaria de recompensa (ou gratificação), com função no processo de consumo e dependência de drogas (GARDNER, 2005). Outra função designada a esta porção do CPF é a de processos de retardo na memória, ou seja, de análises de interposições temporais durante a execução de uma tarefa cognitiva (DELATOUR; GISQUEST-VERRIER, 1999). Em uma análise comparativa, a parede medial do CPF de roedores é uma porção não-diferenciada que estaria relacionada a funções executivas encontradas no córtex pré-frontal dorsolateral (CPFdl) de primatas, como a memória operacional, processos atencionais, de raciocínio e julgamento, além da detecção de novos estímulos ambientais e organização temporal do comportamento (BROWN; BOWMAN, 2002). Características das subáreas Fr2 e parte do ACg do CPFm de roedores sofreram um desenvolvimento evolutivo correspondente às áreas 6, 8, 9, 10 e 46 do córtex de primatas, que indicam o CPFdl dos últimos (UYLINGS; EDEN, 1990) (FIG. 8).

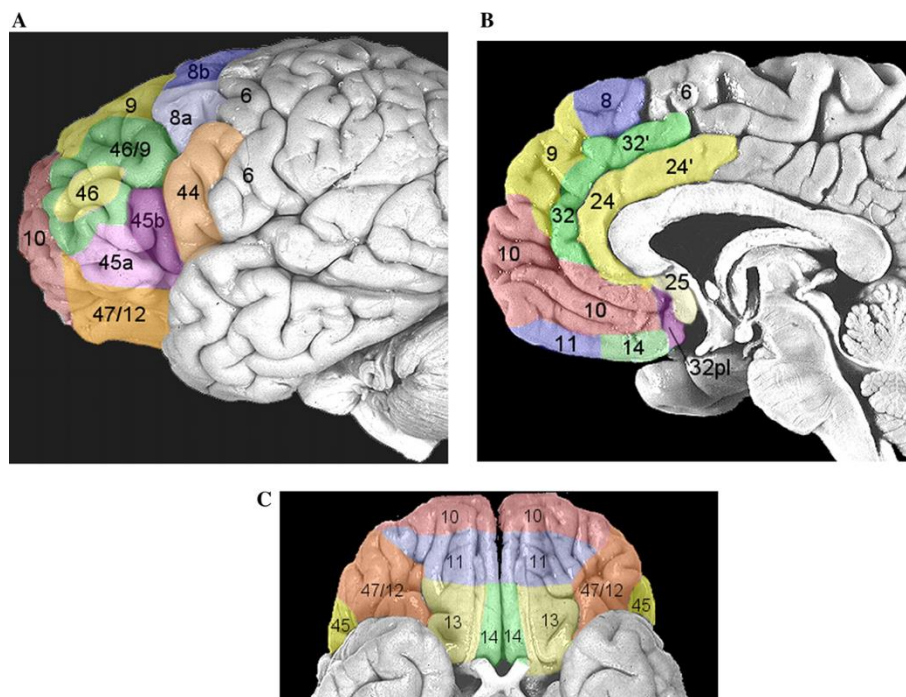


Figura 8. Imagens das divisões do CPF de acordo com o mapeamento de Brodmann (1909), nas orientações lateral (A), medial (B) e orbital (C). Nesta imagem pode-se observar as sub-regiões do CPF como a área oculomotora (área 8 de Brodmann), área dorsolateral (áreas 9 e 10), área orbitofrontal lateral (área 10), e cíngulo anterior ou córtex pré-frontal medial (CPFm) (área 24 de Brodmann). Fonte: Neurocognitive mechanisms of cognitive control: The role of prefrontal cortex in action selection, response inhibition, performance monitoring, and reward based learning (Ridderinkhof et al., 2004).

Dados de estudos funcionais por tomografia e ressonância magnética, sugerem que o CPF é organizado de acordo com o tipo de informação processada, sendo que a informação espacial é processada mais dorsalmente que a informação das características da imagem, por exemplo (SMITH; JONIDES, 1999). A área do CPFdl em humanos também está envolvida com os processos de atenção e mobilidade. Lesões nessa região levaram a uma perda na espontaneidade, além da dificuldade em iniciar movimentos e de comunicação (CUMMINGS, 1993; VERFAELLIE; HEILMAN, 1987). Indivíduos com essas lesões, assim como no córtex cíngulo anterior, apresentam um quadro de apatia generalizada, desinteresse pelo ambiente e dificuldade em desempenhar em testes cognitivo-comportamentais (FUSTER, 2001).

Estudos realizados em nosso laboratório demonstram a relação do CPFdl com o processo de consumo e abuso de drogas. Pacientes dependentes de álcool foram submetidos à técnica não-invasiva de estimulação transcraniana por corrente elétrica de baixa intensidade (tDCS) na região do CPFdl esquerdo, e apresentaram uma redução dos comportamentos de procura e ânsia pelo consumo da droga, descrito como *craving* (DA SILVA et al., 2013). O comportamento de *craving* por crack induzido por imagem também foi reduzido, quando o CPFdl foi estimulado bilateralmente por tDCS (CONTI; NAKAMURA-PALACIOS, 2014).

O CPFdl, portanto, está envolvido na regulação do comportamento e no controle das respostas aos estímulos ambientais, mantendo conexões recíprocas com áreas como gânglios da base, córtex pré-motor, cíngulo e parietal (WOOD; GRAFMAN, 2003).

Apesar de as subáreas do CPF parecerem ter funções estritamente delimitadas, em verdade elas funcionam de forma concomitante e articulada, a fim de coordenar múltiplas funções de alta complexidade, como o caso da memória operacional (NAKAMURA-PALACIOS; LEVIN, 2011). Sendo assim, o CPF funciona como um gerenciador de todos os processos mentais de nível superior, com objetivos de curto ou longo prazo, por regular o comportamento iminente e planejar as ações futuras, e controlando quais informações são necessárias para o cumprimento deste planejamento (WANG, 2005).

O desenvolvimento e amadurecimento do CPF na espécie *Homo sapiens* se dão de forma tardia (HUTTENLOCHER; DABHOLKAR, 1997). A maturação de todo o córtex humano ocorre em sentido caudal-rostral, da porção medial para a lateral, sendo o CPF a última área a ser contemplada neste processo, podendo atingir sua maturação total até os 30 anos de idade (SOWELL et al., 1999). Essa inclusive é uma característica que pode estar relacionada à melhora progressiva das habilidades cognitivas complexas em função da idade (FUSTER, 2001).

Um estudo realizado com crianças e adolescentes analisou o desenvolvimento cortical mediante o tempo, por escaneamento de ressonância magnética (FIG. 9). Os resultados apontam um amadurecimento mais tardio das áreas corticais de ordem superior, comparadas aos córtices somatossensorial e visual, inferindo que áreas com características mais primitivas amadurecem mais rápido que as de características mais derivadas (GOGTAY et al., 2004).

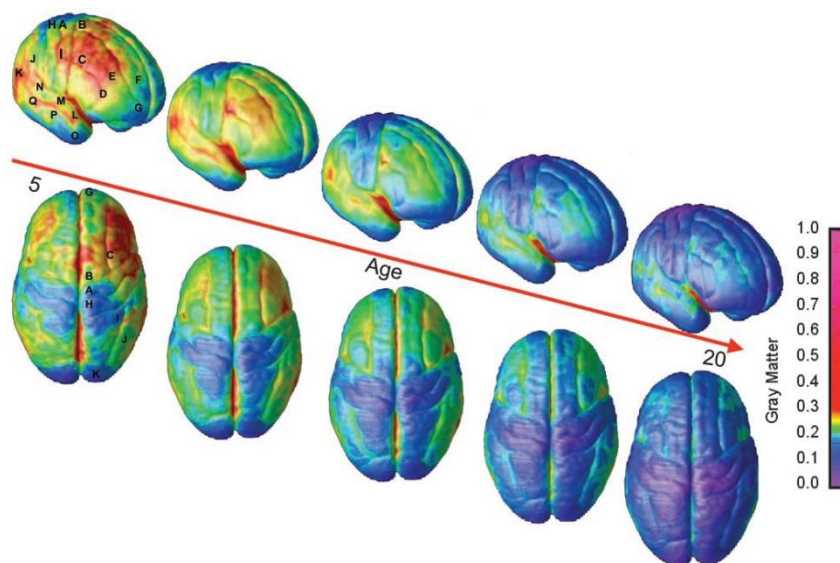


Figura 9. Imagens de ressonância magnética de cérebro humano, nas orientações lateral direita e superior, que exibe a gradual maturação da substância cinzenta na superfície cortical dos 5 aos 20 anos de idade. A barra lateral representa, em cores, as unidades de volume de substância cinzenta. Fonte: Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood (GOGTAY et al., 2004)

Sendo assim, um dano ou alteração atribuída à função do CPF poderia afetar o processo de tomada de decisões e escolhas, levando o indivíduo a optar por comportamentos de ganho imediato (como o ato de consumir uma droga de abuso), em contrapartida de uma análise das consequências futuras de suas ações (BECHARA et al., 2001).

Memória Operacional

Memória operacional, de trabalho ou, do inglês, “*working memory*”, é um mecanismo de armazenamento temporário de informações que são moduladas para o cumprimento de tarefas complexas que incluem compreensão da

linguagem, aprendizagem e raciocínio (BADDELEY, 1983; BADDELEY; LOGIE, 1999). O termo é utilizado para um tipo de memória que é ativa durante um delimitado período de tempo, como por exemplo, ao se memorizar um número de telefone até a realização do telefonema, que é quando esta informação deixa de ser relevante. A memória de trabalho pode ser analogicamente comparada a um caderno de rascunhos mental, que se diferencia das alterações duradouras de aprendizagem em outros processos de consolidação de memória (GOLDMAN-RAKIC, 1995).

Proposta inicialmente por Miller et al., em 1960, sofreu adequações e complementações até que, em 1968, Atkinson & Shiffrin afirmaram que a memória operacional seria um sistema único e de duração breve (BADDELEY, 2002). Em seguida, Baddeley & Hitch, em 1974, conceituaram-na como um sistema múltiplo, subdividido pelas seguintes funções: executivo central, responsável pelo controle da atenção, tomada de decisões, planejamento de estratégias e raciocínio; alça fonológica, com informações acústicas e verbais; alça visuoespacial, com informações visuais e espaciais; e o *buffer* episódico, proposto apenas em 2001, que funciona como um amparo mnemônico que se utiliza de momentos ou episódios, para auxiliar a funcionalidade do executivo central (BADDELEY, 1996; BADDELEY, 2002).

O CPF, em conjunto com outras áreas do cérebro, mantém um circuito de reverberação de informações durante o processamento da memória operacional (FUSTER, 2002). Estudos de neuroimagem demonstraram uma participação mais específica do CPFdl (áreas 9 e 46 de Brodmann), durante a tarefa da *working memory* (D'ESPOSITO et al., 1998; MOTTAGHY et al., 2000; SAUSENG et al., 2004).

Na neurociência comportamental e estudos de comportamento animal, o termo “memória operacional” está associado ao paradigma do labirinto radial (SHAH; MYIAKE, 1996). Neste contexto, a memória de trabalho participa da localização do animal no espaço, através da lembrança de onde ele esteve anteriormente, designando assim a memória operacional espacial (GAGLIARDO; MAZZOTTO; DIVAC, 1997; OLTON, 1979).

Em 1976, Olton & Samuelson, propuseram o modelo de labirinto radial que pôde ser utilizado em diversos protocolos comportamentais que avaliariam funções cognitivas distintas, incluindo a memória operacional. Neste caso, o modelo avaliaria a função visuoespacial da *working memory*, através do fundamento da aprendizagem espacial. Para executar o protocolo, o animal, em privação parcial de alimento, é treinado a alcançar o reforço presente no final de cada braço do labirinto. Passadas algumas sessões, um intervalo de retenção do animal (retardo) é feito entre um número definido de braços visitados. Este procedimento caracteriza o estudo como teste com retardo (*delayed task*), retardo não-pareado à amostra (*delayed nonmatching to sample* – DNMS), ou ganho na mudança de resposta com retardo (*delayed spatial win shift*) (AUJLA; BENINGER, 2001; PHILLIPS; AHN; FLORESCO, 2004). Neste procedimento o animal deverá evitar, após o retardo, a entrada em braços já visitados, pois se o fizer incorrerá em erro de desempenho e consequentemente em prejuízo de memória operacional. Nesse contexto, a memória operacional se refere à capacidade do animal em reter informações numa dada sessão de teste. As informações, entretanto, não são relevantes em sessões seguintes (OLTON; BECKER; HANDELMANN, 1980).

Além da memória operacional, a memória de referência, ou de procedimento, também é avaliada no contexto do labirinto radial. É uma espécie de memória de longo prazo caracterizada pelo armazenamento de informações desconectadas de um contexto, que necessita da utilização de regras para uma execução plena da tarefa. Seus mecanismos são distintos da memória de trabalho, mas atuam em consonância para a execução da tarefa do labirinto radial (OLTON; COLLISON; WERZ, 1977). Além disso, vários estudos tem demonstrado o labirinto radial de oito braços como um modelo eficaz para a avaliação do efeito de drogas psicoativas e de lesões cerebrais sobre a *working memory* (MIZUMORI et al., 1987; NAKAMURA-PALACIOS; ROELKE, 1997; NAKAMURA et al., 1991; PENNA et al., 1998; RODRIGUES; CONTI; NAKAMURA-PALACIOS, 2011).

Justificativa

O consumo abusivo de álcool se destaca como um dos principais problemas no uso de drogas em âmbito mundial, e recebe grande atenção por parte das organizações nacionais e mundial de saúde. O consumo de álcool abusivo e episódico, descrito como *binge*, aumenta mais este alerta, por estar ligado a um prejuízo mais acentuado a diferentes funções do sistema nervoso central. O consumo em *binge* tem aumentado ao longo dos últimos anos, e principalmente, em um público adolescente e de jovens adultos. A preocupação com estes grupos se dá no ainda incompleto desenvolvimento do sistema nervoso central, em especial na área do CPF, que se relaciona com a execução de memórias ligadas à tomada de decisões e circuito de recompensa. Este estudo, portanto, se dedica a entender os efeitos causados pelo consumo de álcool em *binge* na memória operacional de ratos, que passaram por um treinamento no labirinto radial de oito braços durante a adolescência. Espera-se que os resultados do mesmo, possam contribuir para uma melhor fundamentação e compreensão dos efeitos neurotóxicos e comportamentais do álcool, além de auxiliar na composição de métodos e práticas a serem utilizados pelo conhecimento comum, científico e de políticas públicas, nas problemáticas envolvidas com o abuso da droga.

OBJETIVOS

Geral

Avaliar os efeitos do etanol sobre a memória operacional espacial de ratos adolescentes e jovens adultos submetidos a um modelo de consumo em *binge*.

Específicos

1. Avaliar os efeitos do etanol sobre a memória operacional espacial de ratos expostos a um modelo de consumo em *binge* agudo.
2. Avaliar os efeitos do etanol sobre a memória operacional de ratos expostos a um modelo de consumo em *binge* crônico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 96 ratos Wistar machos, jovens, 30 dias de vida, com peso inicial entre 120 e 150 g, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências da Saúde (CCS), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os animais foram mantidos em ambiente climatizado ($24^{\circ}\text{C} \pm 2$), num ciclo claro-escuro artificial de 12 h, umidade controlada, com água *ad libitum*. Os animais permaneceram em regime de privação alimentar, respeitando uma margem de 80% a 85% de seu peso inicial, ajustado ao crescimento. Neste estudo foram respeitados os princípios éticos do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), que está em conformidade com normas internacionais de pesquisa envolvendo animais. Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) do CCS/UFES sob o número 015/2011.

Drogas

O álcool etílico (EtOH) foi a droga utilizada para o tratamento e consequente avaliação de seus efeitos. O EtOH absoluto pró-análise (Jand Química, São Paulo, SP) foi diluído em água destilada, nas concentrações 10%, 20% e 30% (m/v) e administrado por gavage (IG) nas doses de 3g/kg, 6g/kg e 9g/kg, respectivamente, num volume de 3 mL para cada 100 g/de massa corporal do animal. A concentração do etanol nas soluções para as doses de 3g/kg, 6g/kg e 9 g/kg foram distintas, para que não houvesse uma alteração no volume administrado para cada grupo, evitando assim um viés de dilatação gástrica para os grupos que receberiam mais álcool.

Paradigma de avaliação da Memória Operacional Espacial – o labirinto radial de oito braços (LR-8)

A avaliação da memória operacional espacial dos animais foi realizada a partir de testes no Labirinto Radial de Oito Braços (LR-8). Originalmente, esse paradigma foi proposto por Olton e Samuelson (1976) com o objetivo de apenas avaliar a memória operacional espacial de animais (OLTON, 1979), e posteriormente, passou a ser utilizado adicionalmente para investigar os efeitos de drogas de abuso sobre a funcionalidade da memória operacional espacial (DE MELO et al., 2005; NAKAMURA-PALACIOS; ROELKE, 1997; NAKAMURA et al., 1991; OLIVEIRA et al., 1990; RODRIGUES; CONTI; NAKAMURA-PALACIOS, 2011).

O LR-8 (FIG. 10) é constituído de uma arena central octagonal (33 cm de diâmetro) de onde se projetam oito corredores (braços) simétricos e removíveis (70 cm de comprimento, 10 cm de largura e paredes com 4 cm de altura). Nas margens da plataforma, paredes de 30 cm de altura formam as aberturas para os oito braços, com divisórias em portas verticais deslizantes, similares a uma guilhotina. No final de cada corredor existe um receptáculo (10 cm de largura e 3 cm de profundidade) de cor preta, onde eram depositados os reforços (cerca de $\frac{1}{4}$ de grão de amendoim) para as tarefas de exploração e aprendizado. Além disso, outras paredes (20 cm de altura) ficam dispostas nos segmentos iniciais de cada braço, com o intuito de impedir a passagem do animal de um corredor para o outro sem antes retornar ao centro do labirinto. Todos os elementos supracitados são feitos de acrílico resistente, e se encaixam em uma estrutura de madeira totalmente revestida por fórmica de cor branca, sustentada por um suporte metálico a 100 cm do chão.



Figura 10. Fotografia do Labirinto Radial de Oito Braços (LR8) utilizado nos experimentos comportamentais de memória operacional espacial.

A sala onde foram executados os testes de memória operacional possuía algumas adaptações e condições para garantir um resultado confiável. A luz era adaptada (luz vermelha) para não irritar a visão dos animais, com temperatura controlada ($24^{\circ}\text{C} \pm 2$), e objetos pendurados pelos flancos da sala, para servirem de pista visual durante a exploração e aprendizado do teste.

Para a aquisição da tarefa do LR-8, os animais foram submetidos a cinco sessões de treinamento por semana (segunda a sexta), uma sessão ao dia, que duravam dez minutos, no máximo, e que seguia um protocolo das fases a seguir:

Fase 1a) Os animais foram postos no centro do labirinto, que por sua vez, tinha todas as portas abertas e receptáculos vazios, sem nenhum reforço. O período de exploração e adaptação se dava em dez minutos ao longo de três dias consecutivos.

Fase 1b) O reforço (amendoim) foi adicionado no receptáculo de cada braço do labirinto, para que os animais aprendessem a localizá-lo, e assim repetido o protocolo da fase 1a. Essa fase durou cerca de cinco dias.

Fase 2) Após os animais terem aprendido a localizar os receptáculos na fase anterior, eles retornaram ao LR-8 no dia seguinte, para explorar os braços totalmente abertos a partir da arena central. A diferença desta fase para a anterior se dá no fechamento da porta que dá acesso ao braço que o animal acabou de entrar. Assim que fechada, os animais permaneceram no corredor durante 10 segundos, e foram realocados na arena central novamente. Foi considerado que o animal aprendeu a tarefa, nesta fase, quando ele conseguiu entrar nos oito braços em um tempo menor ou igual a cinco minutos.

Fase 3) Os animais foram novamente postos no centro da plataforma, com todas as portas abertas, permitindo acesso a qualquer um dos corredores. Após entrada em algum dos braços, a porta era fechada, e assim que o reforço era recolhido, o animal era realocado ao centro. Diferente da fase anterior, a porta do braço escolhido era reaberta para que o animal pudesse escolhê-lo novamente. No entanto, escolher o retorno a um braço previamente visitado era considerado um erro de desempenho e, deste modo, os animais deveriam aprender a não repetir as escolhas, caracterizando a aquisição da tarefa do LR-8 propriamente dita. Os animais foram treinados para atingir 0 ou 1 erro por sessão durante três sessões consecutivas. Foram necessárias cerca de 10 sessões para que os animais atingissem o critério.

Fase 4) Nesta fase as sessões foram divididas em duas partes, separadas por um intervalo de retenção, também chamado de retardo. Na primeira parte da sessão (pré-retardo) quatro portas eram abertas aleatoriamente em cada sessão para que os animais alcançassem o reforço. Após visitar o último dos braços abertos, o animal era recolhido a sua gaiola, onde permanecia por 5 segundos. Na segunda parte (pós-retardo), os animais eram realocados na arena central, e desta vez, com todas as portas abertas, eles deveriam entrar nos outros quatro braços que não estavam disponíveis na primeira parte da sessão. Os animais foram treinados a atingir, novamente, 0 ou 1 erro por

sessão durante 3 sessões consecutivas, tanto no pré-retardo quanto no pós-retardo. Foram necessárias cerca de seis sessões para que todos os animais atingissem o critério e finalizassem o teste.

Somente aqueles animais que atingiram o critério de aprendizagem foram submetidos ao tratamento em regime de *binge* agudo ou crônico e ainda, somente aqueles que mantiveram esse critério ao longo do tratamento foram submetidos a testes com retardo de 1 h no LR-8.

Desenho experimental

Após o treinamento no labirinto radial de oito braços (LR-8), os animais experimentais foram divididos nos seguintes grupos de tratamento, respeitando uma escolha randomizada para grupos independentes:

- Controle (recebeu administração de água destilada pela via IG);
- 3g/kg (recebeu administração de EtOH 10% p/v, pela via IG);
- 6g/kg (recebeu administração de EtOH 20% p/v, pela via IG);
- 9g/kg (recebeu administração de EtOH 30% p/v, pela via IG).

Os regimes de administração de etanol em *binge* foram divididos entre agudo e crônico. O regime de consumo em *binge* agudo se dá pela administração de etanol via gavagem por três dias consecutivos, e no regime em *binge* crônico, esse mesmo consumo se dá por três dias e se repete ao longo de quatro semanas consecutivas. O volume de etanol a ser administrado a cada animal foi dividido respeitando um intervalo de 20 min, a fim de respeitar as normas do CONCEA e não resultar em agressão ao trato digestivo do animal. Para o grupo controle (CON) foi utilizada água destilada, seguindo os mesmos padrões de volume e administração do EtOH. Importante ressaltar que os animais permaneciam em jejum de alimento e água por cerca de uma hora antes do início do tratamento, para evitar regurgitação, já que o volume administrado é relativamente alto. Ao final do tempo de tratamento no regime em *binge* agudo e crônico, os animais foram submetidos a testes de memória operacional espacial com retardo de uma hora no LR-8. Importante destacar que durante o tratamento em *binge* crônico todos os animais eram submetidos

a uma sessão de treinamento no LR-8, dois dias após a última administração daquela semana, para avaliar a manutenção do critério de aprendizagem (0 a 1 erro no pré- e pós-retardo). Ao final dos experimentos os animais foram eutanasiados e tiveram sua destinação final de acordo com as normas sanitárias vigentes (FIG. 11).

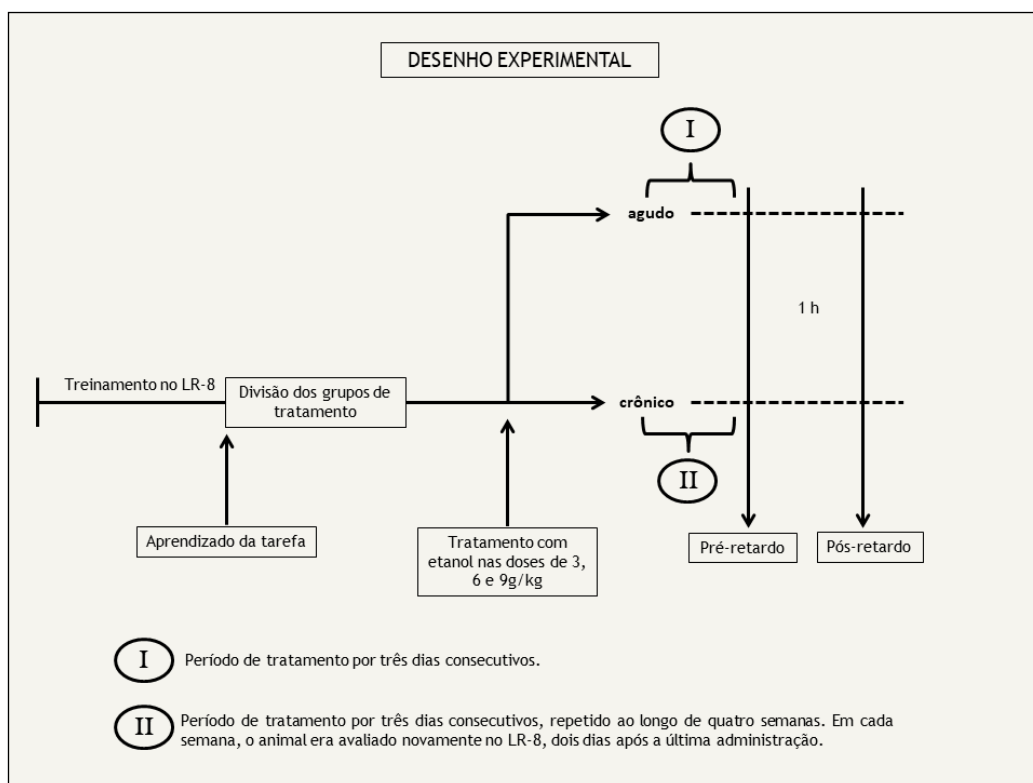


Figura 11. Fluxograma representativo do desenho experimental, que indica cada fase do protocolo em um ponto de vista temporal. Imagem criada pelo autor.

Análise estatística

Para análise de desempenho no labirinto radial de 8 braços foram observados o número de erros cometidos e o tempo gasto em cada braço visitado numa sessão de treinamento ou de teste.

A análise do número de erros cometidos foi realizada através da entrada em braços já visitados numa mesma sessão de treinamento, enquanto a análise de

tempo gasto em cada braço foi avaliada pela relação entre tempo total de permanência no labirinto (em segundos) e o número de braços visitados.

Para a avaliação de erros cometidos e de tempo gasto na aquisição da tarefa foi empregada análise de variância (ANOVA) de uma via para medidas repetidas (entre sessões de treinamento) seguida de teste de Tukey e regressão exponencial, tanto para a fase 3 da aquisição da tarefa quanto para a fase 4, no pré- e no pós-retardo de 5 s.

Para as curvas dose-efeito no binge agudo e binge crônico foram considerados o número de erros cometidos e o tempo gasto em cada braço tanto no pré- como no pós-retardo de 1 h. Para essas análises foi realizada ANOVA de uma via para amostras independentes seguida de teste de Tukey.

Tanto os dados de desempenho como os de tempo de permanência nos braços foram representados pela média $\pm$ erro padrão da média (e.p.m.). Para todas as análises estatísticas foi empregado um nível de significância para $p < 0,05$.

O programa GraphPad Prism versão 8.0 foi utilizado para a análise estatística e representação gráfica.

RESULTADOS

Aquisição da tarefa

Antes da introdução dos retardos de 5 s (fase 3)

Os animais apresentaram uma melhora do desempenho no labirinto radial ao longo das sessões, representada por uma redução gradual do número de erros ao longo das 10 sessões do treinamento, atingindo o critério de 0 a 1 erro por sessão ao longo de três sessões consecutivas (FIG. 12).

A ANOVA de uma via para medidas repetidas detectou uma diferença estatisticamente significativa na comparação do número de erros cometidos pelos animais ao longo de 10 sessões de treinamento [$F(5,321, 519,7) = 157,5$; $p < 0,0001$].

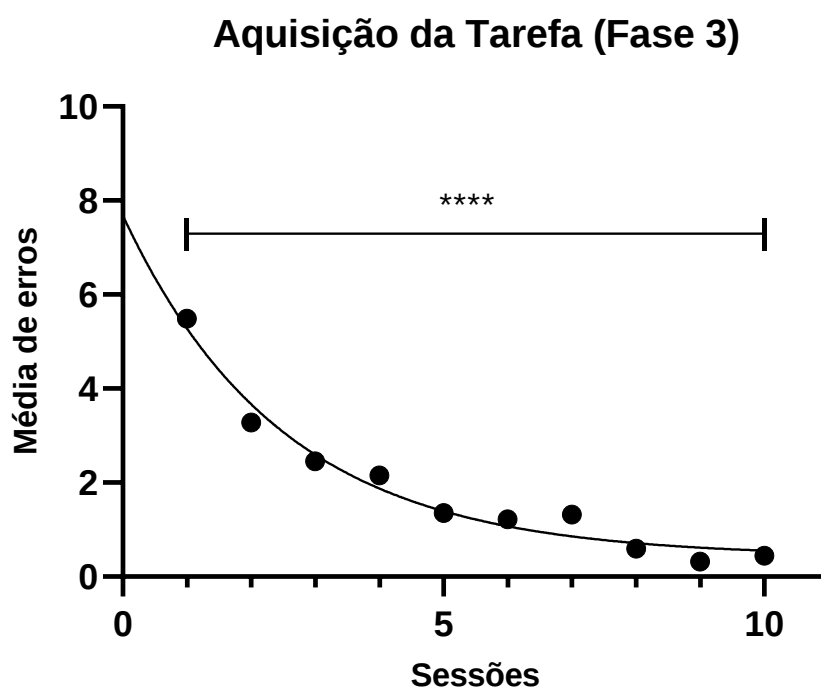


Figura 12. Desempenho (média de erros) dos animais ($n = 96$) nas dez últimas sessões de treinamento na fase III de aquisição da tarefa no labirinto radial de oito braços. **** $p < 0,0001$ comparado às três primeiras sessões.

De um modo geral, o teste de Tukey mostrou que as quatro últimas sessões apresentaram significativamente ($p < 0,0001$) menor número de erros em relação às três primeiras sessões (FIG. 12).

A análise de regressão exponencial também mostrou uma redução estatisticamente significativa do número de erros com a progressão das sessões de treinamento [$R^2 = 0,9715$; $SS = 0,6431$; $Sy.x = 0,3031$].

O tempo gasto em cada braço visitado na fase de aquisição da tarefa antes do intervalo de retenção de 5 s (fase 3) está demonstrado na Tabela I. Houve uma diminuição progressiva do tempo gasto em cada braço visitado com a evolução dos treinos.

Tabela I. Média $\pm$ e.p.m. do tempo gasto (em segundos) em cada braço visitado na aquisição da tarefa no labirinto radial de oito braços ($n = 96$)

Tempo gasto (em segundos) em cada braço			
Sessões	Média	Sessões	Média
1	40,84 $\pm$ 1,15	6	19,68 $\pm$ 0,35 ****
2	34,14 $\pm$ 1,24	7	17,97 $\pm$ 0,27 ****
3	27,20 $\pm$ 0,74 ****	8	16,39 $\pm$ 0,25 ****
4	23,35 $\pm$ 0,83 ****	9	15,55 $\pm$ 0,20 ****
5	21,30 $\pm$ 0,49 ****	10	14,81 $\pm$ 0,19 ****

**** $p < 0,0001$ em relação às sessões 1 e 2

A ANOVA de uma via para medidas repetidas detectou diferenças estatisticamente significantes no tempo gasto em cada braço no decorrer das 10 sessões de treinamento [$F(2,948, 286) = 124,8$; $p < 0,0001$].

O teste de Tukey mostrou que as sessões de 3 a 10 apresentaram menor tempo gasto ($p < 0,0001$) em relação às duas primeiras sessões (TAB. I).

A análise de regressão exponencial também demonstrou uma redução progressiva estatisticamente significativa ao longo das sessões [$R^2 = 0,9967$; $SS = 2,222$; $Sy.x = 0,5635$].

Os resultados apresentados estão em concordância com a melhora progressiva do desempenho dos animais no labirinto radial de oito braços, o que é esperado no processo de aprendizagem.

Após a introdução dos retardos de 5 s (fase 4)

Nesta fase, após a introdução do intervalo de retenção (retardo) de 5 s, também foi observada uma melhora progressiva do desempenho dos animais no labirinto radial ao longo de seis sessões de treinamento (FIG. 13).

A ANOVA de uma via para medidas repetidas detectou diferenças estatisticamente significantes no número de erros cometidos tanto no pré- [$F(2,781, 264,2) = 21,67$; $P < 0,0001$] quanto no pós-retardo [$F(2,790, 265,1) = 67,97$; $P < 0,0001$] (FIG. 13).

O teste de Tukey detectou que o número de erros nas quatro últimas sessões foi significativamente menor ($p < 0,0001$) no pré-retardo, e nas cinco últimas do pós-retardos de 5 s, ambas comparadas às primeiras sessões (FIG. 13). A análise de regressão exponencial também mostrou que houve uma diminuição estatisticamente significativa no número de erros cometidos pelos animais no pré- [$R^2 = 0,9916$; $SS = 0,002386$; $Sy.x = 0,02820$]. e pós-retardo [$R^2 = 0,9940$; $SS = 0,01701$; $Sy.x = 0,07529$].

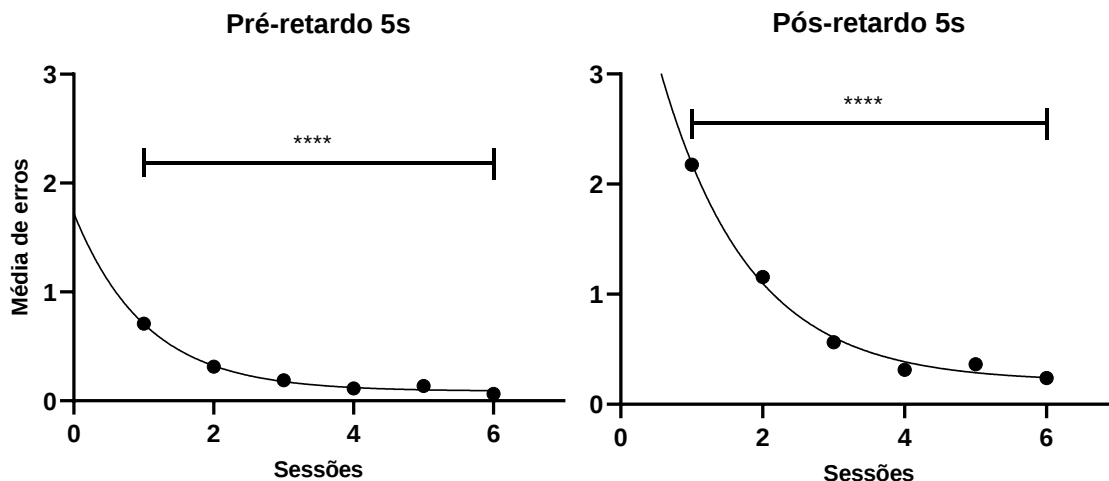


Figura 13. Desempenho (média de erros) do pré- (gráfico à esquerda) e pós-retardo (gráfico à direita) de 5 s de animais ($n = 96$) na fase 4 do treinamento no labirinto radial de 8 braços. **** $p < 0,0001$ comparados à primeira sessão.

A ANOVA de uma via para medidas repetidas também detectou diferenças estatisticamente significantes tanto no pré- [$F(3,471, 329,8) = 45,34$; $p < 0,0001$] quanto no pós-retardo [$F(1,814, 172,3) = 4,756$; $p < 0,05$] de 5 s com relação ao tempo gasto em cada braço visitado (TAB. II).

O teste de Tukey demonstrou que os animais apresentaram menor tempo gasto ($p < 0,0001$) nas cinco últimas sessões comparadas à primeira no pré-retardo de cinco segundos, e no pós-retardo, apenas nas sessões 4 e 5. A última sessão de treino no pós-retardo não apresentou diferença significativa ($p = 0,46$) na média de tempo gasto em cada braço, comparada à primeira sessão (TAB. II).

A diminuição do número de erros e tempo gasto em cada braço visitado no labirinto radial antes e após a introdução dos retardos de 5 s sugere aquisição de aprendizagem satisfatória pelos animais no labirinto radial de 8 braços, o que está de acordo com a literatura acerca deste paradigma experimental.

Tabela II. Média $\pm$ e.p.m. do tempo gasto (em segundos) em cada braço visitado no desempenho do pré- e do pós-retardo de 5 s, na fase de aprendizagem (n = 96).

Tempo gasto (segundos) em cada braço		
	pré-retardo	pós-retardo
Sessões	Média	Média
1	19,81 $\pm$ 0,28	16,40 $\pm$ 0,24
2	17,01 $\pm$ 0,20 ****	15,04 $\pm$ 0,21 *
3	16,14 $\pm$ 0,18 ****	15,00 $\pm$ 0,20 **
4	14,87 $\pm$ 0,21 ****	13,43 $\pm$ 0,15 ****
5	14,33 $\pm$ 0,21 ****	14,24 $\pm$ 0,29 ****
6	14,09 $\pm$ 0,52 ****	14,57 $\pm$ 0,20

**** p < 0,0001; ** p < 0,01; * p < 0,05

Desempenho no labirinto radial de oito braços após tratamento em binge agudo e crônico (retardo de 1 h)

Binge agudo

O desempenho (média de erros $\pm$ e.p.m.) dos animais na realização dos testes com retardos de 1h no labirinto radial de oito braços, após um tratamento com etanol em *binge* agudo (três dias consecutivos de tratamento), administrado via gavagem, pode ser observado na figura 14.

O etanol em *binge* agudo não afetou de forma significativa o desempenho dos animais em todos os grupos de tratamento no pré-retardo de 1h. Já no pós-retardo de 1h, a ANOVA de uma via para amostras independentes detectou uma diferença significativa entre os grupos de tratamento [F (2,580, 34,40) = 5,308; p < 0,01].

O teste de Tukey detectou um significativo aumento no número de erros (p < 0,05), apenas no grupo que recebeu etanol em *binge* na dose de 6g/kg (EtOH 6) comparado ao grupo controle (FIG. 14).

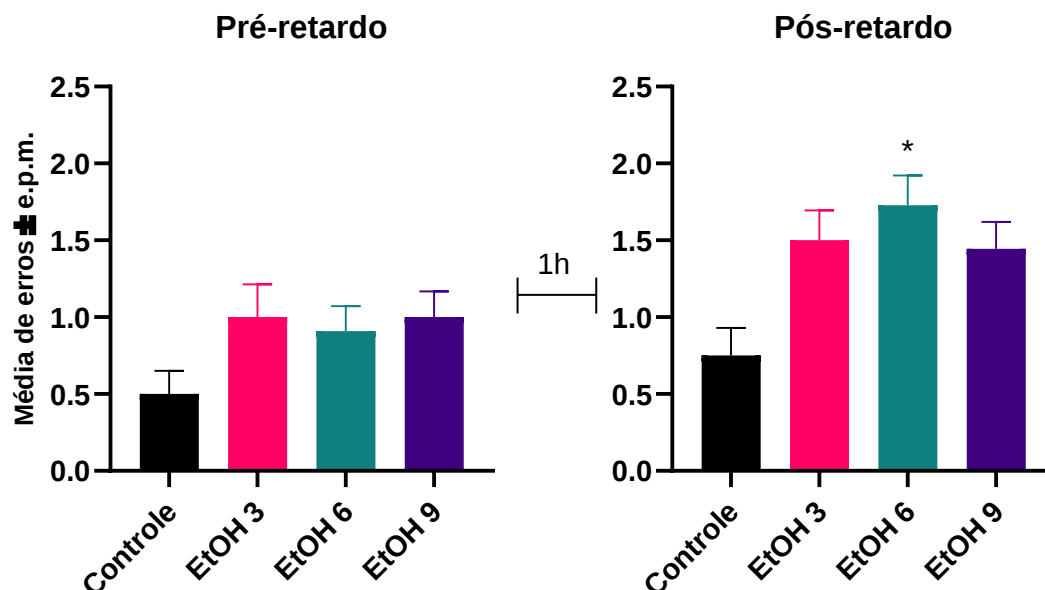


Figura 14. Efeitos da administração aguda via intragástrica de etanol em *binge* nas doses de 3 (n = 12), 6 (n = 11) e 9g/kg (n = 9), sobre o desempenho (média de erros ± e.p.m.) de animais no pré- e pós-retardo de 1h no labirinto radial de oito braços, comparados aos grupo controle (n = 12). ANOVA de uma via pra amostras independentes *p < 0,05 na comparação entre grupos.

O ANOVA de uma via para amostras independentes não detectou uma diferença significativa do tempo gasto em cada braço no pré-retardo, porém, no pós-retardo de 1h, esta diferença foi detectada [$F(1,212, 11,72) = 6,622$; $p < 0,05$].

O teste de Tukey, por sua vez, detectou uma diferença entre grupos, tanto no pré-, quanto no pós-retardo ($p < 0,05$; $p < 0,01$; respectivamente), ambos nos grupos que receberam o tratamento com etanol na dose de 6g/kg comparado ao grupo controle (EtOH 6) (TAB. III).

Tabela III. Efeitos do etanol em *binge* agudo nas diferentes doses sobre o tempo gasto (segundos) em cada braço visitado no pré- e pós-retardo de 1h (n = 44).

Média de tempo gasto (s) $\pm$ e.p.m.		
Doses Etanol		
(g/kg)	Pré-retardo	Pós-retardo
Controle	13,61 $\pm$ 0,16	15,54 $\pm$ 0,13
EtOH 3	14,32 $\pm$ 0,2	16,71 $\pm$ 0,12
EtOH 6	15,58 $\pm$ 0,18*	18,12 $\pm$ 0,13**
EtOH 9	15,01 $\pm$ 0,2	17,71 $\pm$ 0,25

** p < 0,01; * p < 0,05

Binge crônico

O desempenho (média de erros $\pm$ e.p.m.) dos animais na realização dos testes com retardos de 1h no labirinto radial de oito braços, após um tratamento com etanol em *binge* crônico (três dias consecutivos de tratamento ao longo de quatro semanas), administrado por gavagem, pode ser observada na figura 15.

O ANOVA de uma via para amostras independentes detectou diferenças no desempenho dos animais dos grupos tratados tanto no pré- [F (2,088, 26,45) = 3,483; p < 0,05], quanto no pós-retardo [F (2,252, 20,27) = 7,825; p < 0,01] de 1h, para a quantidade de erros cometidos.

O teste de Tukey detectou que tanto no pré- quanto no pós-retardo de 1h houve diferença significativa entre grupos (p < 0,05). No pré-retardo de 1h, apenas o grupo que consumiu a dose de 3g/kg (EtOH 3) teve um prejuízo significativo comparado ao grupo controle. No pós-retardo de 1h, todos os grupos tratados com etanol em *binge* (doses de 3, 6 e 9 g/kg) apresentaram aumento significativo (p < 0,05) no número de erros no labirinto radial de oito braços comparados ao grupo controle (FIG. 15).

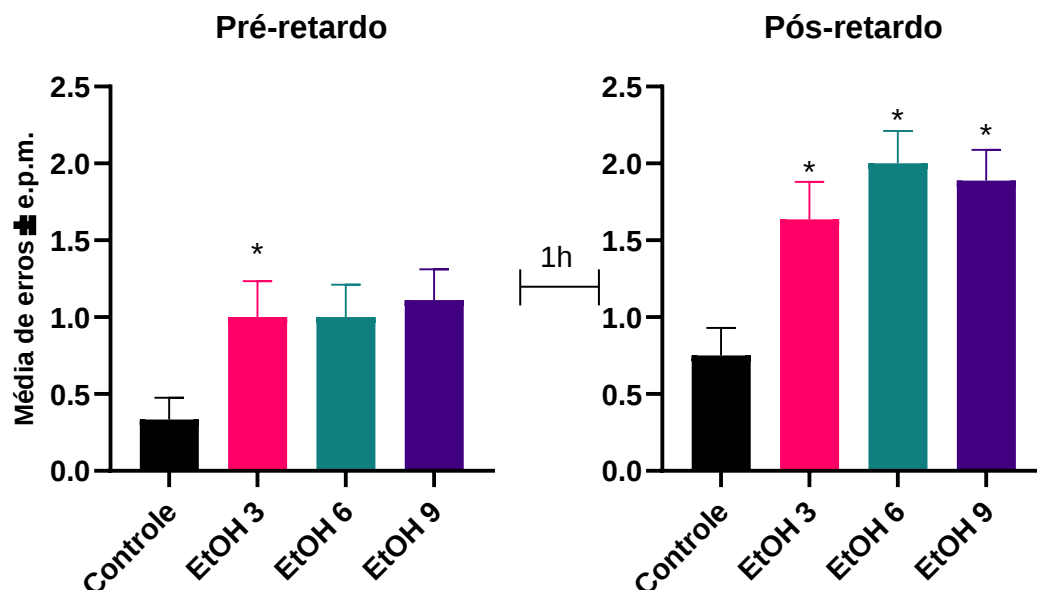


Figura 15. Efeitos da administração crônica via intragástrica de etanol em *binge* nas doses de 3 (n = 11), 6 (n = 10) e 9g/kg (n = 9), sobre o desempenho (média de erros ± e.p.m.) de animais no pré- e pós-retardo de 1h no labirinto radial de oito braços, comparados aos grupo controle (n = 12). ANOVA de uma via para amostras independentes * p < 0,05 comparado ao grupo controle.

A ANOVA de uma via para amostras independentes não detectou diferenças estatisticamente significantes no tempo gasto em cada braço visitado, tanto no pré- quanto no pós-retardo, na comparação todos os grupos que receberam etanol em *binge* crônico nas diferentes doses (TAB. IV).

Tabela IV. Efeitos do etanol em *binge* crônico nas diferentes doses sobre o tempo gasto (segundos) em cada braço visitado no pré- e pós-retardo de 1h (n = 42).

Média de tempo gasto (s) ± e.p.m.		
Doses Etanol		
(g/kg)	Pré-retardo	Pós-retardo
Controle	13,87 ± 0,12	14,69 ± 0,09
EtOH 3	14,30 ± 0,17	14,55 ± 0,11
EtOH 6	13,98 ± 0,14	14,32 ± 0,15
EtOH 9	14,92 ± 0,15	15,25 ± 0,12

DISCUSSÃO

Todos os animais utilizados no experimento atingiram o critério de aprendizagem da tarefa do LR8, antes que fossem iniciados os tratamentos com o etanol. Nossos resultados indicam que o consumo de álcool etílico em *binge* agudo e crônico prejudica a memória operacional espacial de ratos jovens na tarefa do LR8. No regime agudo de administração, apenas os animais que receberam EtOH na dose de 6g/kg tiveram um prejuízo significativo no desempenho do pós-retardo de 1h. Já nos grupos que receberam álcool etílico em *binge* crônico a memória operacional espacial foi prejudicada em comparação ao grupo controle, tanto no pré- quanto no pós-retardo. Na fase de pré-retardo de 1h, apenas o grupo que recebeu EtOH na dose de 3g/kg apresentou um prejuízo significativo comparado ao grupo controle, diferente da fase de pós-retardo 1h, em que todos os grupos tratados (3, 6 e 9g/kg) apresentaram aumento significativo no número de erros.

Álcool Etílico e Prejuízo Cognitivo

Estudos mostram que o consumo pesado e episódico bem como o consumo crônico do álcool etílico causam danos na citoarquitetura e fisiologia cerebral com consequências importantes sobre os processos cognitivos, como percepção, aprendizagem e memória (OSCAR-BERMAN et al., 1997). Com o aumento do consumo de bebidas alcoólicas em nível mundial, além da popularização do consumo pesado e episódico (*binge*) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018), a preocupação em como o etanol age nos mecanismos fisiológicos e bioquímicos do sistema nervoso central e seus efeitos na cognição se torna cada vez mais evidente e necessária.

Em Campanella et al. (2013) não foi detectada uma diferença na avaliação da memória operacional espacial de indivíduos que consumiram etanol em *binge*, comparada aos indivíduos do grupo controle. Apesar de não haver diferenças, os pacientes que consumiam álcool em *binge* obtiveram um maior nível de atividade cerebral durante o desempenho do teste de *n-back*, comparado aos pacientes-controle. Além de um aumento na atividade bilateral da área motora

pré-suplementar do córtex, os pacientes que consumiam álcool em *binge* apresentaram uma correlação positiva entre o número de doses de etanol consumidas por ocasião com um aumento da atividade do córtex pré-frontal dorsomedial. Essa resposta de mais intensa atividade pode ser interpretada como um mecanismo compensatório do cérebro dos consumidores de álcool etílico em *binge*, que por sua vez, pode ser considerada como um fator de risco para o desenvolvimento de desordens no uso de substâncias (CAMPANELLA et al., 2013).

O estudo de George et al. (2012) com ratos Wistar machos, demonstrou que durante um período de abstinência após consumo abusivo e crônico de etanol, o recrutamento de interneurônios específicos entre o CPFm e o núcleo central da amígdala causam um prejuízo no controle executivo sobre o comportamento de motivação. Esta mesma desregulação no CPFm é o que pode desenvolver prejuízos cognitivos e um processo de dependência de álcool etílico (GEORGE et al., 2012). Além disso, CPFm não está só envolvido no circuito de recompensa, como também está presente no processamento da memória operacional (EUSTON; GRUBER; MCNAUGHTON, 2012).

O prejuízo cognitivo causado pelo consumo abusivo do álcool pode estar relacionado a dois eventos bioquímicos que desequilibram a funcionalidade de uma célula e/ou tecido: o estresse oxidativo e a inflamação (COLLINS; NEAFSEY, 2012). O estresse oxidativo se dá quando o nível de agentes pró-oxidantes, como as espécies reativas de oxigênio (EROs) por exemplo, estão em maior abundância que agentes antioxidantes naquele microambiente (WU; CEDERBAUM, 2003). Este aumento nas EROs é derivado de reações provocadas por agentes celulares presentes no tecido, na tentativa de neutralizar os efeitos tóxicos causados pelo etanol (BLANCO et al., 2004). Estas reações e ações celulares presentes no processo inflamatório produzem e são moduladas por substâncias de sinalização celular chamadas de citocinas pró- ou anti-inflamatórias (CREWS et al., 2006). Como o CPF é uma região estritamente vinculada aos processos cognitivos de julgamento, atenção, aprendizagem e memória operacional, além de ser participante ativo do circuito de recompensa cerebral, um dano à funcionalidade do tecido provocaria um

prejuízo na execução dos processos previamente citados (CREWS et al., 2000; NAKAMURA-PALACIOS; LUGON, 2017; ORSINI et al., 2018; OTT; NIEDER, 2019; RAGOZZINO; DETRICK; KESNER, 2002).

Estudos do nosso laboratório já demonstraram a capacidade do beber em *binge* em ocasionar danos oxidativos e inflamatórios em nível celular. Animais tratados com etanol em *binge* tiveram um aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio no CPF, quando avaliados através do dihidroetídio (DHE), um marcador de ânion superóxido. Os grupos dos regimes agudo, nas doses de 3g/kg e 6g/kg, e crônico, na dose de 6g/kg apresentaram um aumento significativo de ânion superóxido comparado aos grupos-controle (PELIÇÃO et al., 2016). Na avaliação dos níveis inflamatórios, todos os grupos tratados com álcool em *binge* apresentaram aumento nas citocinas pró-inflamatórias. Os grupos que receberam etanol nas doses 3g/kg e 6g/kg obtiveram uma elevação nos níveis de INF- γ e TNF- α nos tecidos do CPF e hipocampo, tanto no regime agudo quanto no crônico de tratamento (BELLOZI et al., 2019). Os dois estudos corroboram dados da literatura, que fundamentam estes efeitos oxidativos e pró-inflamatórios que o álcool etílico em *binge* produz em regiões cerebrais relacionadas intimamente à cognição (ALFONSO-LOECHES et al., 2010; BLANCO et al., 2005; FERNANDEZ-LIZARBE; PASCUAL; GUERRI, 2009; MANSOURI et al., 2001; MCCLAIN et al., 1997; PASCUAL, María et al., 2014; SCOLARO et al., 2012).

O presente estudo se utilizou do mesmo modelo de consumo de álcool etílico, no que concerne à dosagem, concentração da solução, modo e regime de administração dos estudos prévios do laboratório. A partir dos resultados obtidos pelos nossos estudos e literatura, confiamos que este modelo de consumo de álcool em *binge* causa prejuízos oxidativos e inflamatórios no tecido do CPF, restando a avaliação de respostas comportamentais e cognitivas após o tratamento.

Apesar dos achados apontarem um efeito neurotóxico e neuroinflamatório do etanol, os testes com viés cognitivo-comportamental realizados por nosso grupo, até então, não apresentaram evidências de uma ação prejudicial. No

estudo de Bellozi et al. (2019), por exemplo, os animais realizaram o teste de reconhecimento de objetos (TRO) no intuito de avaliar a memória de reconhecimento (um tipo de memória episódica) de objetos já explorados e dos ainda a serem explorados, após períodos curto e longo de retenção do animal (ENNACEUR; DELACOUR, 1988). Os resultados não são conclusivos em relação a um prejuízo neste tipo de memória nos grupos tratados, apesar de indicarem certa tendência a este prejuízo apenas nas tarefas de longo prazo. A tendência a este prejuízo nas tarefas de longo prazo pode estar relacionada com os efeitos do etanol na consolidação da memória, que dependem de sínteses proteicas e processos de neuroplasticidade (MYSKIW et al., 2008; ROSSATO et al., 2007). Ainda em Bellozi et al. (2019), os níveis do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) foram avaliados e indicaram essa tendência a um prejuízo de longo prazo. Os níveis de BDNF em um consumo agudo de etanol foram mais elevados, indicando uma medida neuroprotetiva na ocorrência de uma inflamação (LIN et al., 2011), enquanto os níveis em animais que receberam um tratamento crônico foram reduzidos, consequentes de processos neuroplásticos anormais que interferem no desenvolvimento de um cérebro saudável e em funções cognitivas (BERNIER; WHITAKER; MORIKAWA, 2011; LOGRIP; JANAK; RON, 2009; THOMPSON et al., 2004; WHITE, 2003).

Diferente dos resultados apresentados na avaliação da memória de reconhecimento (TRO), os animais no presente estudo apresentaram um déficit na execução da tarefa do LR8, o que aponta um prejuízo na memória operacional espacial dos animais tratados com EtOH em *binge*. Resultados de estudos prévios em nosso laboratório demonstraram que animais que receberam doses de 100 e 180µg de etanol por via intracortical, bilateralmente na região do CPFm, apresentaram um prejuízo de desempenho do LR8 no pós- retardo de 1h e de 5s, respectivamente (DE OLIVEIRA; NAKAMURA-PALACIOS, 2003). Este prejuízo encontrado, também corrobora com outros dados previamente encontrados na literatura (BENEVIDES, 2007; WEST; MAYNARD; LEASURE, 2018). O diferencial do nosso estudo se dá na utilização de um modelo de consumo de álcool em *binge*, administrado por gavage, em doses crescentes e em regimes agudo e crônico, o que permitiu

uma avaliação mais abrangente dos efeitos do etanol em animais jovens baseadas no tempo de exposição e quantidade de etanol consumidas, reproduzindo o consumo de final de semana, de forma aguda ou crônica.

Prejuízo Cognitivo na Adolescência e Juventude

Além do aumento no consumo abusivo do álcool etílico na população geral, o significativo aumento na faixa etária da adolescência torna esses dados ainda mais preocupantes, já que em algumas regiões (Américas, Europa e Pacífico Oeste) a razão de consumo entre a população adulta e a adolescente é quase de 1:1 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Baseado nessas estatísticas e nesse iminente problema de saúde pública, o presente estudo utiliza um modelo animal com ratos adolescentes e jovens adultos, para avaliar o prejuízo cognitivo já nesta faixa etária. Como o CPF ainda não atingiu plena maturidade nesta idade, os danos causados a essa região cerebral durante este período causam prejuízos cognitivos que podem se perdurar ao longo de sua maturação (CREWS et al., 2000).

Adolescentes dos 16 aos 19 anos de idade, que consumiam etanol em *binge*, foram avaliados através de ressonância magnética durante a execução de um teste que envolvia a memória operacional espacial. Os resultados indicaram que existe uma correlação gênero-específica com os prejuízos do beber em *binge* na adolescência, já que os indivíduos do sexo masculino que consumiam etanol apresentaram um melhor desempenho que os indivíduos controle, enquanto as consumidoras de etanol em *binge* obtiveram um desempenho prejudicado comparadas aos controle. Apesar dos indicativos, estudos que envolvam essa correlação gênero-específica precisam ser melhor avaliados em outras faixas etárias (SQUEGLIA et al., 2011).

Estudos que avaliaram os efeitos do consumo de etanol em *binge* em jovens adultos, ainda não levantam conclusões definitivas sobre seus efeitos deletérios no SNC nestas faixas etárias, apesar dos indicativos. Resultados eletrofisiológicos apontam que estudantes universitários que consumiam álcool em *binge* apresentam um maior esforço atencional para executar algumas

tarefas envolvendo a memória operacional. No mesmo estudo, os consumidores em *binge* também apresentaram dificuldade em discernir informações úteis e inúteis para a realização da tarefa (CREGO et al., 2009). Um estudo mais recente envolvendo também jovens universitários, não detectou uma diferença eletrofisiológica significativa na execução de uma tarefa que envolvia a memória operacional espacial, mas apontou que os resultados podem ser consideravelmente influenciados pela idade e pelo tempo em que o indivíduo iniciou o consumo pesado e episódico de etanol (PARK; KIM, 2018).

Ratos adolescentes que foram expostos a um modelo de consumo de etanol em *binge* crônico também apresentaram um déficit na execução de uma tarefa que envolvia a utilização da memória operacional. Os animais foram expostos a uma câmara de inalação de etanol durante 3 dias por semana, ao longo de quatro semanas, e foram avaliados no labirinto aquático de Morris. Os animais que consumiram álcool etílico tiveram um desempenho prejudicado comparado aos controle, de 10 a 15 dias depois do último dia de tratamento (SCHULTEIS et al., 2008). Além de estar em acordo com os resultados encontrados por Schulteis et al. (2008), o presente estudo também avalia este possível prejuízo em regime agudo de administração, com maior variação nas doses e administração via gavagem intragástrica, que julgamos ser mais realista.

O presente estudo identificou um prejuízo na memória operacional espacial dos animais tratados, principalmente nas avaliações após o período de retenção. No caso dos grupos tratados em regime agudo, a sua avaliação ainda se deu enquanto os animais estavam na faixa etária considerada adolescência. Já nos grupos tratados no regime crônico, os animais só puderam ser avaliados quando já tinham passado pela adolescência e seriam considerados jovens adultos. Os resultados obtidos corroboram com os prejuízos já encontrados pela literatura, na relação consumo de etanol em *binge* na adolescência e juventude. Além disso, o regime de consumo já foi utilizado pelos trabalhos do laboratório previamente citados (BELLOZI et al., 2019; PELIÇÃO et al., 2016), indicando uma consistência para que este modelo de administração de etanol seja mantido para estudos seguintes.

Limitações do Estudo

Um dos contrapontos deste estudo é a diferença do número amostral entre os grupos, principalmente os grupos que receberam etanol nas doses de 9g/kg, devido à mortalidade destes animais. Este fator, inclusive, foi determinante para que excluíssemos este grupo de tratamento em estudos posteriores em nosso laboratório (BELLOZI et al., 2019; PELIÇÃO et al., 2016), já que foi possível encontrar um equilíbrio do efeito prejudicial do álcool etílico, porém sem alta taxa de mortalidade nos grupos que receberam as doses de 3g/kg e 6g/kg.

Outro ponto discutível do presente estudo é o tempo de espera entre o tratamento e a avaliação cognitiva no LR8. Em nosso estudo, os animais eram levados ao LR8 para os testes de memória operacional somente dois dias após o último dia de tratamento com etanol, na tentativa de minimizar efeito da abstinência aguda do etanol, ou “ressaca”, causada pelo beber em *binge* no desempenho dos animais. Apesar dos comportamentos relacionados à ansiedade induzida pela “ressaca” se abrandarem após cerca de 24h em roedores machos, os estudos relacionados aos efeitos da “ressaca” administravam doses únicas de etanol em *binge* (GAUVIN; YOUNGBLOOD; HOLLOWAY, 1992; KARADAYIAN; BUSTAMANTE; LORES-ARNAIZ, 2016; VARLINSKAYA; SPEAR, 2004). Nosso trabalho expunha os animais a três dias seguidos de administração de álcool em *binge*, o que poderia ser um fator de prolongamento desse prejuízo de curto prazo causado pela abstinência. Uma avaliação dos mesmos parâmetros cognitivos feita em um período mais distante do fim do tratamento poderia acarretar em diferentes resultados, como o abrandamento dos efeitos no tratamento agudo, mas uma manutenção do prejuízo em regime crônico de consumo.

Por fim, a avaliação cognitiva ficou restrita para este período breve após a intoxicação com álcool, sem saber se posteriormente, como por exemplo, semanas ou até meses depois, este prejuízo na memória operacional se manteria. O trabalho de Schulteis et al. (2008), também trabalhou com um modelo similar de regime de administração e fez a avaliação cognitiva de 10 a

15 dias após o último dia de tratamento. Talvez uma avaliação após um longo período de exposição à droga, possa ser realizado a posteriori pra avaliar a duração destes prejuízos.

CONCLUSÃO

- O presente estudo demonstrou efeitos prejudiciais do consumo agudo de álcool etílico em *binge* sobre a memória operacional espacial de duração prolongada de ratos adolescentes na dose de 6g/kg.
- O consumo crônico de etanol em *binge* prejudicou a memória operacional espacial de longa duração de ratos jovens adultos em todos os grupos tratados (doses de 3, 6 e 9g/kg).
- O consumo pesado e episódico do etanol na adolescência causa efeitos prejudiciais em processos cognitivo-comportamentais na própria adolescência e no adulto jovem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. D.; VICTOR, M.; ROPPER, A. h. **Principles of Neurology**. 6th. ed. Ney York, USA: McGraw-Hill Inc., 1997.

ALFONSO-LOECHES, Silvia et al. Pivotal role of TLR4 receptors in alcohol-induced neuroinflammation and brain damage. **Journal of Neuroscience**, v. 30, n. 24, p. 8285–8295, 2010.

ARIAS-CARRIÓN, Oscar et al. Dopaminergic reward system: A short integrative review. **International Archives of Medicine**, v. 3, n. 1, p. 1–6, 2010.

ARIAS-CARRIÓN, Óscar; PÖPPEL, Ernst. **Dopamine, learning, and reward-seeking behavior**. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. Arias-Carrión, Óscar: Human Science Center, FESTO-Program for Applied Knowing, Ludwig Maximilian University, Goethestrasse 31, Munich, Germany, 80336, arias@exp-neuro.de: Nencki Inst of Experimental Biology. , 2007

AUJLA, Harinder; BENINGER, Richard J. Hippocampal–prefrontocortical circuits: PKA inhibition in the prefrontal cortex impairs delayed nonmatching in the radial maze in rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 115, n. 6, p. 1204–1211, 2001.

AYANO, Getinet. Dopamine: Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders: Review of Literatures. **Journal of Mental Disorders and Treatment**, v. 2, n. 2, p. 2–5, 2016.

BADDELEY, A. D. Working memory. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences**, v. 302, n. 1110, p. 311–324, 11 ago. 1983. Disponível em: <<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.1983.0057>>.

BADDELEY, Alan. The fractionation of working memory. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 24, p. 13468–13472, 1996.

BADDELEY, Alan D. Is working memory still working? **European Psychologist**, v. 7, n. 2, p. 85–97, 2002.

BADDELEY, Alan D; LOGIE, Robert H. Working memory: The multiple-component model. **Model. Work. Mem. Mech. Act. Maint. Exec. Control**. New York, NY, US: Cambridge University Press, 1999. p. 28–61.

BASTOS, Francisco Inácio Pinkusfeld Monteiro et al. III LNUD - Levantamento Nacional Sobre o Uso de Drogas Pela População Brasileira. **Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz**, p. 528, 2017.

BECHARA, Antoine et al. Decision-making deficits, linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex, revealed in alcohol and stimulant abusers. **Neuropsychologia**, v. 39, n. 4, p. 376–389, 1 jan. 2001. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028393200001366>>. Acesso em: 4 abr. 2018.

BELLOZI, Paula M.Q. et al. URB597 ameliorates the deleterious effects induced by binge alcohol consumption in adolescent rats. **Neuroscience Letters**, v. 711, n. July, p. 134408, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134408>>.

BENEVIDES, Marcelo Campos de Almeida. **O Antagonista Seletivo Dopaminérgico D2, Sulpirida, no Córtex Pré-Frontal Medial Reduz os Prejuízos do Etanol sobre a Memória Operacional em Ratos**. 2007. 1–86 f. Universidade Federal do Espírito Santo, 2007.

BERNHEIMER, H.; HORNYKIEWICZ, O. Decreased homovanillic acid concentration in the brain in parkinsonian subjects as an expression of a disorder of central dopamine metabolism. **Klinische Wochenschrift**, v. 43, n. 13, p. 711–715, jul. 1965. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF01707066>>.

BERNIER, Brian E.; WHITAKER, Leslie R.; MORIKAWA, Hitoshi. Previous ethanol experience enhances synaptic plasticity of NMDA receptors in the ventral tegmental area. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 14, p. 5205–5212, 2011.

BJÖRKLUND, Anders; DUNNETT, Stephen B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. **Trends in Neurosciences**, v. 30, n. 5, p. 194–202, 2007.

BLANCO, Ana M. et al. Involvement of TLR4/Type I IL-1 Receptor Signaling in the Induction of Inflammatory Mediators and Cell Death Induced by Ethanol in Cultured Astrocytes. **The Journal of Immunology**, v. 175, n. 10, p. 6893–6899, 2005.

BLANCO, Ana M et al. Ethanol-induced iNOS and COX-2 expression in cultured astrocytes via NF- κ B. **NeuroReport**, v. 15, n. 4, 2004. Disponível em: <http://journals.lww.com/neuroreport/Fulltext/2004/03220/Ethanol_induced_iNOS_and_COX_2_expression_in.21.aspx>.

BLOOMFIELD, Kim et al. Social inequalities in alcohol consumption and alcohol-related problems in the study countries of the EU concered action “Gender, culture and alcohol problems: A multi-national study”. **Alcohol and Alcoholism**, v. 41, n. SUPPL. 1, p. 26–36, 2006.

BROWN, Verity J; BOWMAN, Eric M. Rodent models of prefrontal cortical function. v. 25, n. 7, p. 340–343, 2002.

CAMPANELLA, Salvatore et al. Increased Cortical Activity in Binge Drinkers during Working Memory Task: A Preliminary Assessment through a Functional Magnetic Resonance Imaging Study. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. 1–10, 2013.

CARLSSON, Arvid. DETECTION AND ASSAY OF DOPAMINE. **Pharmacological Reviews**, v. 11, n. 2, p. 300 LP – 304, 1 jun. 1959. Disponível em: <<http://pharmrev.aspetjournals.org/content/11/2/300.abstract>>.

CHEN, Liping; XU, Ming. Dopamine D1 and D3 receptors are differentially involved in cue-elicited cocaine seeking. **Journal of Neurochemistry**, v. 114, n. 2, p. 530–541, 2010.

COLLINS, Michael a.; NEAFSEY, Edward J. Neuroinflammatory pathways in binge alcohol-induced neuronal degeneration: Oxidative stress cascade involving aquaporin, brain edema, and phospholipase A2 activation. **Neurotoxicity Research**, v. 21, n. 1, p. 70–78, 2012.

CONTI, Catarine Lima; NAKAMURA-PALACIOS, Ester Miyuki. Bilateral transcranial direct current stimulation over dorsolateral prefrontal cortex changes the drug-cued reactivity in the anterior cingulate cortex of Crack-

cocaine addicts. **Brain Stimulation**, v. 7, n. 1, p. 130–132, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.brs.2013.09.007>>.

COURTNEY, Kelly E; POLICH, John. Binge drinking in young adults: Data, definitions, and determinants. **Psychological bulletin**, v. 135, n. 1, p. 142–156, 2009.

CREGO, Alberto et al. Binge drinking affects attentional and visual working memory processing in young university students. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 33, n. 11, p. 1870–1879, 2009.

CREWS, Fulton; HE, Jun; HODGE, Clyde. Adolescent cortical development: A critical period of vulnerability for addiction. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 86, n. 2, p. 189–199, 2007.

CREWS, Fulton T. et al. Binge ethanol consumption causes differential brain damage in young adolescent rats compared with adult rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 24, n. 11, p. 1712–1723, 2000.

_____. Cytokines and alcohol. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 30, n. 4, p. 720–730, 2006.

CRUZ, Hans G. et al. Bi-directional effects of GABAB receptor agonists on the mesolimbic dopamine system. **Nature Neuroscience**, v. 7, n. 2, p. 153–159, 2004.

CUMMINGS, Jeffrey L. Frontal-Subcortical Circuits and Human Behavior. **Archives of Neurology**, v. 50, n. 8, p. 873–880, 1993.

D'ESPOSITO, M. et al. Human prefrontal cortex is not specific for working memory: A functional MRI study. **NeuroImage**, v. 8, n. 3, p. 274–282, 1998.

DA SILVA, Morgana Croce et al. Behavioral effects of transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) induced dorsolateral prefrontal cortex plasticity in alcohol dependence. **Journal of Physiology Paris**, v. 107, n. 6, p. 493–502, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphysparis.2013.07.003>>.

DALLEY, Jeffrey W.; CARDINAL, Rudolf N.; ROBBINS, Trevor W. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: Neural and neurochemical

substrates. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 28, n. 7, p. 771–784, 2004.

DAMÁSIO, Hanna et al. The return of Phineas Gage: Clues about the brain from the skull of a famous patient. **Science**, v. 264, n. 5162, p. 1102–1105, 1994.

DE MELO, Livia Carla Silva et al. Δ 9-THC administered into the medial prefrontal cortex disrupts the spatial working memory. **Psychopharmacology**, v. 183, n. 1, p. 54–64, 2005.

DE OLIVEIRA, Roney Welinton Dias; NAKAMURA-PALACIOS, Ester Miyuki. Haloperidol increases the disruptive effect of alcohol on spatial working memory in rats: a dopaminergic modulation in the medial prefrontal cortex. **Psychopharmacology**, v. 170, n. 1, p. 51–61, 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00213-003-1511-1>>.

DELATOUR, Benoît; GISQUEST-VERRIER, Pascale. Lesions of the prelimbic–infralimbic cortices in rats do not disrupt response selection processes but induce delay-dependent deficits: Evidence for a role in working memory? **Behavioral Neuroscience**, v. 113, n. 5, p. 941–955, 1999.

DI CHIARA, G.; IMPERATO, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 85, n. 14, p. 5274–5278, 1988.

DI CHIARA, Gaetano; BASSAREO, Valentina. Reward system and addiction: what dopamine does and doesn't do. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 69–76, 2007.

DUFFY, James D; CAMPBELL, John J. **The regional prefrontal syndromes: A theoretical and clinical overview. The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences**. US: American Psychiatric Assn. , 1994

DURAZZO, Timothy C. et al. Cortical thickness, surface area, and volume of the brain reward system in alcohol dependence: Relationships to relapse and extended abstinence. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v.

35, n. 6, p. 1187–1200, 2011.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. **Behavioural Brain Research**, v. 31, n. 1, p. 47–59, nov. 1988. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016643288890157X>>. Acesso em: 30 abr. 2015.

ERHART, E. A. **Neuroanatomia**. 4^a ed. [S.I.]: Atheneu Editora São Paulo S.A., 1972.

EUSTON, David R.; GRUBER, Aaron J.; MCNAUGHTON, Bruce L. The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. **Neuron**, v. 76, n. 6, p. 1057–1070, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>>.

FERNANDEZ-LIZARBE, Sara; PASCUAL, Maria; GUERRI, Consuelo. Critical Role of TLR4 Response in the Activation of Microglia Induced by Ethanol. **The Journal of Immunology**, v. 183, n. 7, p. 4733–4744, 2009.

FUSTER, J. M. **The Prefrontal Cortex**. 4th. ed. [S.I.]: Academic Press, 2008.

FUSTER, Joaquín M. **The prefrontal cortex - An update: Time is of the essence. Neuron**. [S.I.]: Cell Press. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627301002859>>. Acesso em: 4 abr. 2018. , 1 maio 2001

FUSTER, Joaquín M. 2002 - Fuster - J Neurocytol Frontal lobe & cognitive development. **Journal of Neurocytology**, v. 385, n. 2002, p. 373–385, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1024190429920>>.

GAGLIARDO, Anna; MAZZOTTO, Monica; DIVAC, Ivan. **Memory of radial maze behavior in pigeons after ablations of the presumed equivalent of mammalian prefrontal cortex. Behavioral Neuroscience**. Divac, Ivan: Department of Medical Physiology, Panum Institute, Blegdamsvej 3, Copenhagen, Denmark, DK 2200, i.divac@mfi.ku.dk: American Psychological Association. , 1997

GALDURÓZ, J. C.F.; CARLINI, E. A. Use of alcohol among the inhabitants of the 107 largest cities in Brazil - 2001. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 3, p. 367–375, 2007.

GALDURÓZ, José Carlos F.; CAETANO, Raul. Epidemiology of alcohol use in Brazil. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 26, n. SUPPL., p. 3–6, 2004.

GALVAN, Adriana. Adolescent development of the reward system. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 4, n. February, p. 1–9, 2010.

GARDNER, Eliot L. Endocannabinoid signaling system and brain reward: Emphasis on dopamine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 81, n. 2 SPEC. ISS., p. 263–284, 1 jun. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091305705001309>. Acesso em: 4 abr. 2018.

GAUVIN, David V.; YOUNGBLOOD, Bradley D.; HOLLOWAY, Frank A. The Discriminative Stimulus Properties of Acute Ethanol Withdrawal (Hangover) in Rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 16, n. 2, p. 336–341, 1992.

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

GOGTAY, Nitin et al. Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 21, p. 8174–8179, 2004.

GOLDMAN-RAKIC, P. S. Cellular basis of working memory. **Neuron**, v. 14, n. 3, p. 477–485, 1995.

GOLDMAN-RAKIC, P S; MULY III, E C; WILLIAMS, G V. **D₁ receptors in prefrontal cells and circuits. Brain Research Reviews**. Netherlands: Elsevier Science. , 2000

GOODMAN, Jarid; PACKARD, Mark G. Memory systems and the addicted

brain. **Frontiers in Psychiatry**, v. 7, n. FEB, p. 1–9, 2016.

HAEGLER, Katrin et al. No fear no risk! Human risk behavior is affected by chemosensory anxiety signals. **Neuropsychologia**, v. 48, n. 13, p. 3901–3908, 2010. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2010.09.019>>.

HILL, K G et al. Early adult outcomes of adolescent binge drinking: person- and variable-centered analyses of binge drinking trajectories. **Alcoholism, clinical and experimental research**, v. 24, n. 6, p. 892–901, 2000.

HUTTENLOCHER, Peter R.; DABHOLKAR, Arun S. Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex. **Journal of Comparative Neurology**, v. 387, n. 2, p. 167–178, 1997.

JOFFE, Max E.; GRUETER, Carrie A.; GRUETER, Brad A. Biological substrates of addiction. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science**, v. 5, n. 2, p. 151–171, 2014.

JOUANDET, Marc L.; GAZZANIGA, Michael S. Cortical field of origin of the anterior commissure of the rhesus monkey. **Experimental Neurology**, v. 66, n. 2, p. 381–397, 1979.

KAN, Ming Yue; LAU, Maggie. Comparing alcohol affordability in 65 cities worldwide. **Drug and Alcohol Review**, v. 32, n. 1, p. 19–26, 2013.

KANDEL, Eric R. The Molecular Biology of Memory Storage: A Dialogue Between Genes and Synapses. **Science**, v. 294, n. November, p. 1030–1039, 2001.

KARADAYIAN, Analia G.; BUSTAMANTE, Juanita; LORES-ARNAIZ, Silvia. Alcohol hangover: Impairments in behavior and bioenergetics in central nervous system. **Biocell**, v. 40, n. 1, p. 31–34, 2016.

KAUER, Julie A.; MALENKA, Robert C. Synaptic plasticity and addiction. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 11, p. 844–858, 2007.

KELLEY, Ann E.; SCHOCHET, Terri; LANDRY, Charles F. Risk taking and novelty seeking in adolescence: Introduction to part I. 2004, [S.l: s.n.], 2004. p.

27–32.

KIMBERG, Daniel Y.; D'ESPOSITO, Mark; FARAH, Martha J. Effects of bromocriptine on human subjects depend on working memory capacity. **NeuroReport**, v. 8, n. 16, p. 3581–3585, 1997.

KOLB, B. Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. **Brain Research**, v. 320, n. 1, p. 65–98, 1984.

KOOB, George F. A role for GABA mechanisms in the motivational effects of alcohol. **Biochemical Pharmacology**, v. 68, n. 8, p. 1515–1525, 2004.

KRANZ, G. S.; KASPER, S.; LANZENBERGER, R. Reward and the serotonergic system. **Neuroscience**, v. 166, n. 4, p. 1023–1035, 2010.
Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.01.036>>.

KUMAR, Sandeep et al. The role of GABAA receptors in the acute and chronic effects of ethanol: A decade of progress. **Psychopharmacology**, v. 205, n. 4, p. 529–564, 2009.

KUNTSCHKE, E; REHM, J; GMEL, G. Characteristics of binge drinkers in Europe. **Social Science & Medicine**, v. 59, n. 1, p. 113–27, jul. 2004.
Disponível em:
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277953603005458>>.
Acesso em: 9 maio 2016.

LIN, Ya Tin et al. Up-regulation of dorsal root ganglia BDNF and trkB receptor in inflammatory pain: An in vivo and in vitro study. **Journal of Neuroinflammation**, v. 8, p. 1–22, 2011.

LOGRIP, Marian L.; JANAK, Patricia H.; RON, Dorit. Escalating ethanol intake is associated with altered corticostriatal BDNF expression. **Journal of Neurochemistry**, v. 109, n. 5, p. 1459–1468, 2009.

LURIA, A. R. **Fundamentos de Neuropsicologia**. São Paulo: Editora da USP, 1981.

MÄKELÄ, Pia et al. Episodic heavy drinking in four Nordic countries: a comparative survey. **Addiction**, v. 96, n. 11, p. 1575–1588, 2001.

MANSOURI, a et al. Acute ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial dna in mouse liver, brain, heart, and skeletal muscles: protective effects of antioxidants. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 298, n. 2, p. 737–743, 2001.

MCCLAIN, Craig J. et al. Cytokines and alcoholic liver disease. **Alcohol Research and Health**, v. 21, n. 4, p. 317–320, 1997.

MEREU, Giampaolo; GESSA, Gian Luigi. Low doses of ethanol inhibit the firing of neurons in the substantia nigra, pars reticulata: a GABAergic effect? **Brain Research**, v. 360, n. 1–2, p. 325–330, 1985.

MERRICK, Joav et al. Adolescent injury risk behavior. **International Journal of Adolescent Medicine and Health**, v. 16, n. 3, p. 207–213, 2004.

MILLER, Patrick; PLANT, Moira; PLANT, Martin. Spreading out or concentrating weekly consumption: Alcohol problems and other consequences within a UK population sample. **Alcohol and Alcoholism**, v. 40, n. 5, p. 461–468, 2005.

MIZUMORI, Sheri J et al. **Short- and long-term components of working memory in the rat. Behavioral Neuroscience**. US: American Psychological Association. , 1987

MONTAGU, Katheleen A. Catechol Compunds in Rat Tissues and in Brains of Different Animals. **Group Nature Publishing**, v. 180, p. 756–757, 1957.

MOTTAGHY, Felix M. et al. Modulation of the neuronal circuitry subserving working memory in healthy human subjects by repetitive transcranial magnetic stimulation. **Neuroscience Letters**, v. 280, n. 3, p. 167–170, 2000.

MYSKIW, Jociane C. et al. On the participation of mTOR in recognition memory. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 89, n. 3, p. 338–351, 2008.

NAIMI, Timothy S. et al. Binge drinking in the preconception period and the risk of unintended pregnancy: Implications for women and their children. **Pediatrics**, v. 111, n. 5 II, p. 1136–1141, 2003.

NAKAMURA-PALACIOS, E. M.; LUGON, M. D.M.V. **Crack Cocaine and**

Cognitive Related Electrophysiological Changes After Noninvasive Brain Stimulation. [S.I.]: Elsevier Inc., 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803750-8.00033-6>>.

NAKAMURA-PALACIOS, E M; LEVIN, E S. Working memory and prefrontal cortex and their relation with the brain reward system and drug addiction.

Working memory: capacity, developments and improvement techniques (Levin ES, ed), New York: Nova Science Publishers, p. 109–139, 2011.

NAKAMURA-PALACIOS, Ester Miyuki; ROELKE, Carlos Eduardo. Effects of acute or daily administration of diazepam on spatial learning and working memory. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 46, n. 3, p. 181–190, 1997.

NAKAMURA, Ester Miyuki et al. Reversible effects of acute and long-term administration of Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC) on memory in the rat. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 28, n. 2, p. 167–175, 1991.

NESTLER, Eric J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 2, p. 119–128, 2001.

OLIVE, M. F. et al. Stimulation of endorphin neurotransmission in the nucleus accumbens by ethanol, cocaine, and amphetamine. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 21, n. 23, p. 1–5, 2001.

OLIVEIRA, M G et al. Ethanol decreases choice accuracy in a radial maze delayed test. **Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas**, v. 23, n. 6–7, p. 547—553, 1990. Disponível em: <<http://europepmc.org/abstract/MED/2101074>>.

OLTON, David S.; BECKER, James T.; HANDELMANN, Gail E. Hippocampal function: Working memory or cognitive mapping? **Physiological Psychology**, v. 8, n. 2, p. 239–246, 1980.

OLTON, David S.; COLLISON, Christine; WERZ, Mary Ann. Spatial memory and radial arm maze performance of rats. **Learning and Motivation**, v. 8, n. 3, p. 289–314, 1977.

OLTON, David S. **Mazes, maps, and memory**. American Psychologist. US: American Psychological Association. , 1979

ORSINI, Caitlin A. et al. Contributions of medial prefrontal cortex to decision making involving risk of punishment. **Neuropharmacology**, v. 139, p. 205–216, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.07.018>>.

OSCAR-BERMAN, Marlene et al. Impairments of Brain and Behavior: The Neurological Effects of Alcohol. **Alcohol Health and Research World**, v. 21, n. 1, p. 65–75, 1997. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-3320-7_14>.

OTT, Torben; NIEDER, Andreas. Dopamine and Cognitive Control in Prefrontal Cortex. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 23, n. 3, p. 213–234, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tics.2018.12.006>>.

PARK, Sunyoung; KIM, Myung Sun. An event-related potential study of spatial working memory in binge drinking college students. **PLoS ONE**, v. 13, n. 9, 2018.

PASCUAL, Maria et al. Repeated alcohol administration during adolescence causes changes in the mesolimbic dopaminergic and glutamatergic systems and promotes alcohol intake in the adult rat. **Journal of Neurochemistry**, v. 108, n. 4, p. 920–931, 2009.

PASCUAL, María et al. Neuroimmune activation and myelin changes in adolescent rats exposed to high-dose alcohol and associated cognitive dysfunction: A review with reference to human adolescent drinking. **Alcohol and Alcoholism**, v. 49, n. 2, p. 187–192, 2014.

PASCUAL, María; MONTESINOS, Jorge; GUERRI, Consuelo. Role of the innate immune system in the neuropathological consequences induced by adolescent binge drinking. **Journal of Neuroscience Research**, v. 96, n. 5, p. 765–780, 2017.

PATEL, Vikram et al. Addressing the burden of mental, neurological, and substance use disorders: key messages from Disease Control Priorities, 3rd edition. **The Lancet**, v. 387, n. 10028, p. 1672–1685, 16 abr. 2016. Disponível

em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673615003906>>.

Acesso em: 4 abr. 2018.

PELIÇÃO, Renan et al. URB597 inhibits oxidative stress induced by alcohol binging in the prefrontal cortex of adolescent rats. **Neuroscience Letters**, 2016.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2016.04.068>>.

PENNA, Assunta Maria et al. Behavioral and cognitive effects produced by electrical stimulation in the medial prefrontal cortex: An experimental model for high cortical activation. **Neuropsychobiology**, v. 38, n. 4, p. 241–250, 1998.

PESSIGLIONE, M., SCHMIDT, L., DRAGANSKI, B., KALISCH, R., LAU, H., DOLAN, R. J., & FRITH, C. D. How the Brain Translates Money into Force. **Science**, v. 4, n. 3, p. 345–349, 2007.

PESSIGLIONE, Mathias et al. Dopamine-dependent prediction errors underpin reward-seeking behaviour in humans. **Nature**, v. 442, n. 7106, p. 1042–1045, 2006.

PHILLIPS, Anthony G.; AHN, Soyoon; FLORESCO, Stan B. Magnitude of Dopamine Release in Medial Prefrontal Cortex Predicts Accuracy of Memory on a Delayed Response Task. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 2, p. 547–553, 2004.

PINSKY, Ilana et al. Patterns of alcohol use among Brazilian adolescents - Padrões de uso de álcool entre adolescentes brasileiros. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 32, n. 3, p. 242–249, 2010. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462010000300007&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.br/pdf/rbp/v32n3/aop0710.pdf>.

RAGOZZINO, Michael E.; DETRICK, Shauna; KESNER, Raymond P. The effects of prelimbic and infralimbic lesions on working memory for visual objects in rats. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 77, n. 1, p. 29–43, 2002.

RODRIGUES, Livia Carla De Melo; CONTI, Catarine Lima; NAKAMURA-PALACIOS, Ester Miyuki. Clozapine and SCH 23390 prevent the spatial working memory disruption induced by Δ^9 -THC administration into the medial

prefrontal cortex. **Brain Research**, v. 1382, p. 230–237, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2011.01.069>>.

ROSE, J E; WOOLSEY, C N. The Orbitofrontal Cortex and Its Connections with the Mediodorsal Nucleus in Rabbit, Sheep and Cat. **Research Publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease**, v. 27 (1 vol., p. 210–232, 1948.

ROSS, Stephen; PESELOW, Eric. The neurobiology of addictive disorders. **Clinical Neuropharmacology**, v. 32, n. 5, p. 269–276, 2009.

ROSSATO, Janine I. et al. On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. **Learning and Memory**, v. 14, n. 1, p. 36–46, 2007.

SAUSENG, Paul et al. Theta coupling in the human electroencephalogram during a working memory task. **Neuroscience Letters**, v. 354, n. 2, p. 123–126, 2004.

SCHULTEIS, Gery et al. Intermittent binge alcohol exposure during the periadolescent period induces spatial working memory deficits in young adult rats. **Alcohol**, v. 42, n. 6, p. 459–467, 2008.

SCHULTZ, Wolfram. Behavioral dopamine signals. **Trends in Neurosciences**, v. 30, n. 5, p. 203–210, 2007a.

_____. Multiple dopamine functions at different time courses. **Annual Review of Neuroscience**, v. 30, p. 259–288, 2007b.

SCOLARO, Bianca et al. Mate tea prevents oxidative stress in the blood and hippocampus of rats with acute or chronic ethanol administration. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, 2012.

SHAH, P.; MYIAKE, A. The separability of working memory resources for spatial thinking and language processing: An individual differences approach. **Journal of Experimental Psychology: General**, v. 125, n. 1, p. 4–27, 1996.

SMITH, Edward E; JONIDES, John. Storage and executive processes in the frontal lobes. **Science**, v. 283, n. 5408, p. 1657–1661, 12 mar. 1999. Disponível

em: <<https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.283.5408.1657>>.

SOWELL, Elizabeth R. et al. In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions [1]. **Nature Neuroscience**, v. 2, n. 10, p. 859–861, 1999.

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

SQUEGLIA, Lindsay M. et al. Adolescent binge drinking linked to abnormal spatial working memory brain activation: Differential gender effects. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 35, n. 10, p. 1831–1841, 2011.

STUSS, Donald T; BENSON, D Frank. **Neuropsychological studies of the frontal lobes. Psychological Bulletin**. US: American Psychological Association. , 1984

THOMPSON, Paul M. et al. Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 26, p. 6028–6036, 2004.

UYLINGS, H. B. M.; EDEN, C. G. Van. The prefrontal cortex: its structure, function and pathology. **Progress in Brain Research**, v. 85, p. 31–62, 1990.

UYLINGS, Harry B.M.; GROENEWEGEN, Henk J.; KOLB, Bryan. Do rats have a prefrontal cortex? **Behavioural Brain Research**, v. 146, n. 1–2, p. 3–17, 2003.

VAN HAMEL, Anton et al. Adolescent gambling and coping within a generalized high-risk behavior framework. **Journal of Gambling Studies**, v. 23, n. 4, p. 377–393, 2007.

VARLINSKAYA, Elena I.; SPEAR, Linda P. Acute Ethanol Withdrawal (Hangover) and Social Behavior in Adolescent and Adult Male and Female Sprague-Dawley Rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 28, n. 1, p. 40–50, 2004.

VERFAELLIE, Mieke; HEILMAN, Kenneth M. Response Preparation and Response Inhibition After Lesions of the Medial Frontal Lobe. **Archives of Neurology**, v. 44, n. 12, p. 1265–1271, 1 dez. 1987. Disponível em: <<http://archneur.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=587049>>.

VERTES, R. P. Analysis of projections from the medial prefrontal cortex to the thalamus in the rat, with emphasis on nucleus reuniens. **Journal of Comparative Neurology**, v. 442, n. 2, p. 163–187, 2002.

WANG, Hong; PICKEL, Virginia M. Dopamine D2 Receptors Are Present in Prefrontal Cortical Afferents and Their Targets in Patches of the Rat CaudatePutamen Nucleus. **Journal of Comparative Neurology**, v. 442, n. 2, p. 392–404, 2002.

WANG, Xiao Jing. Discovering spatial working memory fields in prefrontal cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 93, n. 6, p. 3027–3028, 2005.

WEST, Rebecca K.; MAYNARD, Mark E.; LEASURE, J. Leigh. Binge ethanol effects on prefrontal cortex neurons, spatial working memory and task-induced neuronal activation in male and female rats. **Physiology and Behavior**, v. 188, n. January, p. 79–85, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.01.027>>.

WHITE, Aaron M. What happened? Alcohol, memory blackouts, and the brain. **Alcohol Research and Health**, v. 27, n. 2, p. 186–196, 2003.

WHO. Global status report on alcohol and health. **World Health Organization**, p. 1–100, 2014. Disponível em: <http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbg_sruprofiles.pdf>.

WILSNACK, Richard W. et al. Gender and alcohol consumption: Patterns from the multinational GENACIS project. **Addiction**, v. 104, n. 9, p. 1487–1500, 2009.

WISE, Roy A. Dopamine, learning and motivation. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, n. 6, p. 483–494, 2004.

_____. Forebrain substrates of reward and motivation. **Journal of Comparative Neurology**, v. 493, n. 1, p. 115–121, 2005.

WOOD, Jacqueline N; GRAFMAN, Jordan. Human prefrontal cortex: processing and representational perspectives. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, p. 139, 1 fev. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrn1033>>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global status report on alcohol and health 2014. **World Health Organization**, p. 1–392, 2014. Disponível em: <http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbg_sruprofiles.pdf>.

_____. **Global status report on alcohol and health 2018**. [S.l: s.n.], 2018. Disponível em: <http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbg_sruprofiles.pdf>.

_____. Global strategy to reduce the harmful use of alcohol. **World Health Organization**, p. 44, 2010.

WU, Defeng; CEDERBAUM, Arthur I. Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. **Alcohol Research and Health**, v. 27, n. 4, p. 277–284, 2003. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-94-009-7630-6_8>.

YAN, Wensheng et al. The effects of gonadectomy and binge-like ethanol exposure during adolescence on open field behaviour in adult male rats. **Neuroscience Letters**, v. 604, p. 52–57, 2015.