

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS TIPO ANSIOSAS EM
CAMUNDONGOS ADULTOS APÓS A INTOXICAÇÃO ALCOÓLICA EM
CAMUNDONGOS ADOLESCENTES

ISABELLA REIS VELOSO

UBERLÂNDIA-MG

2026

ISABELLA REIS VELOSO

**AVALIAÇÃO DAS RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS DO TIPO ANSIOSAS EM
CAMUNDONGOS ADULTOS APÓS A INTOXICAÇÃO ALCOÓLICA EM
CAMUNDONGOS ADOLESCENTES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Tarciso Tadeu Miguel

UBERLÂNDIA-MG

2026

“A vida não é sobre esperar a tempestade
passar, é sobre aprender a dançar na chuva.”

Judith Beck

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre caminharam ao meu lado em cada etapa desta jornada. Ao meu pai, que mesmo diante do cansaço e da dor, nunca deixou de trabalhar e lutar para que eu pudesse chegar até aqui. À minha mãe, que sempre foi meu abrigo nos momentos difíceis, oferecendo acolhimento, força e amor quando eu mais precisei.

Vocês sempre se orgulharam até dos meus menores passos. Este sonho também é de vocês.

AGRADECIMENTOS

À minha família, que sempre foi meu alicerce ao longo de toda essa jornada. Ao meu pai, João Alessandro, por ser o melhor cozinheiro do mundo, por cada renúncia e palavra de incentivo. À minha mãe, Juliana, por ser meu exemplo de dedicação aos estudos e por me ensinar que o tempo nunca é um limite quando se trata de seguir nossos sonhos e buscar conhecimento.

Ao meu irmão, João Felipe, por ser minha melhor e mais importante companhia nos dias difíceis. E à minha avó, Silvana, que além de avó é minha amiga, sempre me escutando, me apoiando e tornando minha vida mais leve.

Ao meu namorado, Don Diego, por estar ao meu lado durante todo o processo deste TCC, me incentivando, me dando forças nos momentos difíceis e sempre acreditando em mim. Obrigada por, além de tudo, ser meu melhor amigo, me fazendo sorrir quando tudo parecia desafiador.

Aos amigos que fiz ao longo da graduação, que foram essenciais nessa caminhada. Em especial à minha amiga e colega de laboratório, Angélica, por ouvir minhas angústias e compartilhar tantas madrugadas de trabalho.

Agradeço também aos meus amigos Mariana, Lucas, Rodrigo, Eduardo, Adriana e Maria Julia, por toda a amizade e companheirismo durante essa jornada.

Aos meus amigos de fora da faculdade e de infância, em especial à Karol que sempre esteve presente. E, principalmente, à Juliana Zanatta, por sempre estar ao meu lado, me apoiando e torcendo por mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Tarciso Tadeu Miguel, pela paciência e por todo o conhecimento compartilhado ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço, também, a todos os professores da graduação que contribuíram para minha formação.

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU), ao Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM) e ao Departamento de Farmacologia (DEFAR) pela estrutura oferecida para a realização desta pesquisa, bem como à Fundação de Assistência, Estudo e Pesquisa de Uberlândia (FAEPU) pelo apoio financeiro para a execução deste projeto.

Por fim, agradeço a mim mesma pela persistência ao longo deste caminho. Mesmo diante das dificuldades e inseguranças, escolhi continuar, e cada página deste trabalho carrega um pouco dessa escolha.

RESUMO

O álcool é uma das substâncias psicoativas mais consumidas no mundo e seu uso abusivo constitui importante problema de saúde pública, estando associado ao desenvolvimento do Transtorno por Uso de Álcool. A adolescência representa um período particularmente vulnerável aos efeitos do etanol, devido às intensas mudanças no sistema nervoso central, envolvendo maturação cerebral e alterações em sistemas relacionados ao controle inibitório, recompensa e regulação emocional. A exposição ao álcool nessa fase pode produzir alterações duradouras no comportamento, aumentando a suscetibilidade a transtornos psiquiátricos, como os transtornos de ansiedade. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da intoxicação alcoólica durante a adolescência sobre comportamentos relacionados à ansiedade em camundongos adultos da linhagem C57BL/6J. Os animais receberam solução salina 0,9% ou etanol (3,5 g/kg; i.p.), em quatro ciclos de intoxicação/abstinência, compostos por três dias consecutivos de administração seguidos de três dias de abstinência. Na fase adulta, os animais foram submetidos ao Teste de Interação Social (TIS) e ao Teste de Supressão da Alimentação Induzida pela Novidade (NSF), modelos etológicos utilizados para avaliação de ansiedade em roedores. Nas análises gerais, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle e intoxicado nos parâmetros avaliados. Entretanto, ao considerar o fator sexo, observou-se interação significativa entre sexo e tratamento na fase 2 do Teste de Interação Social, com redução da duração de contato com animal não familiar em machos previamente expostos ao etanol durante a adolescência, efeito não observado em fêmeas. No teste de NSF, não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos. Os resultados demonstram que a intoxicação alcoólica na adolescência não promoveu alterações amplas em comportamentos do tipo-ansiedade na vida adulta, porém induziu mudanças específicas relacionadas à interação social em machos. Esses achados reforçam a adolescência como período crítico de vulnerabilidade aos efeitos do álcool e evidenciam a importância de considerar diferenças sexuais na investigação das consequências comportamentais da exposição precoce ao etanol.

Palavras-chaves: etanol; adolescência; ansiedade; comportamento social; intoxicação alcoólica.

ABSTRACT

Alcohol is one of the most widely consumed psychoactive substances in the world, and its abusive use constitutes an important public health problem, being associated with the development of Alcohol Use Disorder. Adolescence represents a particularly vulnerable period to the effects of ethanol due to intense changes in the central nervous system, involving brain maturation and alterations in systems related to inhibitory control, reward, and emotional regulation. Alcohol exposure during this stage may produce long-lasting behavioral changes, increasing susceptibility to psychiatric disorders, such as anxiety disorders. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of alcohol intoxication during adolescence on anxiety-related behaviors in adult C57BL/6J mice. The animals received 0.9% saline solution or ethanol (3.5 g/kg; i.p.) in four intoxication/abstinence cycles, consisting of three consecutive days of administration followed by three days of abstinence. In adulthood, the animals were subjected to the Social Interaction Test (SIT) and the Novelty-Suppressed Feeding Test (NSF), ethological models used to assess anxiety in rodents. In the overall analyses, no statistically significant differences were observed between the control and intoxicated groups in the evaluated parameters. However, when considering sex as a factor, a significant interaction between sex and treatment was observed in phase 2 of the Social Interaction Test, with reduced duration of contact with an unfamiliar animal in males previously exposed to ethanol during adolescence, an effect not observed in females. In the NSF test, no significant differences were found between groups. The results demonstrate that alcohol intoxication during adolescence did not promote broad alterations in anxiety-like behaviors in adulthood; however, it induced specific changes related to social interaction in males. These findings reinforce adolescence as a critical period of vulnerability to the effects of alcohol and highlight the importance of considering sex differences when investigating the behavioral consequences of early ethanol exposure.

Keywords: ethanol; adolescence; anxiety; social behavior; alcohol intoxication.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Neurotransmissão glutamatérgica e GABAérgica.	13
Figura 2: Vias dopaminérgicas do cérebro.	14
Figura 3: Esquema representativo dos ciclos de intoxicação alcoólica.	26
Figura 4: Esquema representativo do protocolo para avaliação de comportamentos do tipo ansiosos.	27
Figura 5: Representação esquemática do aparato utilizado no Teste de Interação Social (TIS).	28
Figura 6: Representação do aparato do Teste Supressão de Alimentação induzida pela novidade.	30
Figura 7: Parâmetros comportamentais avaliados durante o teste de interação social na fase inicial (TIS 1)	31
Figura 8: Parâmetros comportamentais avaliados durante o Teste de Interação Social na fase 2 (TIS 2)	32
Figura 9: Parâmetros comportamentais avaliados no teste de supressão da alimentação induzida pela novidade (NSF)	32
Figura 10: Parâmetros comportamentais avaliados no Teste de Interação Social na fase 1 (TIS 1), considerando o fator sexo	33
Figura 11: Parâmetros comportamentais avaliados no Teste de Interação Social na fase 2 (TIS 2), considerando o fator sexo.	34
Figura 12: Parâmetros comportamentais avaliados no teste de NSF, considerando o fator sexo	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Critérios definidos pelo DMS-5 para o diagnóstico do transtorno por uso de substâncias.....	16
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Álcool	12
1.2. Transtorno por uso de álcool (TUA)	15
1.3. Epidemiologia do TUA.....	17
1.4. Adolescência como janela de vulnerabilidade.....	18
1.5. Transtorno de ansiedade	19
1.6. Epidemiologia dos transtornos de ansiedade.....	20
1.7. Modelos Etológicos	21
2. JUSTIFICATIVA	23
3. OBJETIVO	24
3.1. Objetivo geral	24
3.2. Objetivos específicos	24
4. METODOLOGIA.....	25
4.1. Modelo Animal.....	25
4.2. Substâncias	25
4.3. Protocolo de Intoxicação Alcoólica.....	25
4.4. Teste Comportamentais	26
4.4.1. Teste de Interação Social	27
4.4.2. Teste de supressão de Alimentação induzida pela novidade	29
4.5. Análise Estatística.....	30
4.6. Aspectos éticos na utilização de animais.....	30
5. RESULTADOS	31
5.1. Análise comportamental considerando os grupos controle e intoxicado.....	31
5.2. Análise comportamental considerando o sexo dos animais	33
6. DISCUSSÃO	36

7. CONCLUSÃO.....	42
8. REFERÊNCIAS	43
ANEXO A – Certificado de Comissão de Ética na Utilização de Animais.....	52

1. INTRODUÇÃO

1.1. Álcool

O álcool, presente em diversas bebidas alcoólicas na forma de etanol ou álcool etílico, é uma substância psicoativa amplamente consumida em todo o mundo, associada a importantes efeitos farmacológicos no organismo humano. Por ser uma molécula de baixo peso molecular com propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas, o etanol difunde-se rapidamente pelos tecidos do organismo e atravessa a barreira hematoencefálica. No sistema nervoso central, essa substância atua como um depressor da atividade neuronal, podendo provocar diferentes alterações, incluindo as comportamentais, como prejuízos na coordenação motora, alterações nos processos de tomada de decisão, desinibição comportamental, déficits cognitivos e mudanças no estado emocional, incluindo efeitos ansiolíticos, mais comum, ou ansiogênicos, a depender da dose, do padrão de consumo, do contexto ambiental e variabilidade individual (Costardi et al., 2014; Cederbaum, 2012).

A exposição repetida ao etanol pode induzir alterações neuroadaptativas em diferentes sistemas de neurotransmissão envolvidos na regulação do comportamento, incluindo os sistemas GABAérgico, glutamatérgico e dopaminérgico. Essas alterações contribuem para mudanças comportamentais e para o desenvolvimento de padrões compulsivos de consumo, podendo evoluir para transtornos relacionados ao uso de álcool (Koob; Volkow, 2016). Nesse contexto, os efeitos do etanol sobre o sistema nervoso central estão diretamente relacionados aos seus mecanismos neurobiológicos de ação, que incluem a modulação de diferentes sistemas de neurotransmissores.

O etanol modula diferentes sistemas de neurotransmissão envolvidos na regulação do comportamento. Entre seus principais mecanismos de ação está a potencialização da neurotransmissão GABAérgica, principal sistema inibitório do cérebro, e a inibição da neurotransmissão glutamatérgica, responsável pela excitação neuronal, processo demonstrado na Figura 1. O etanol aumenta a atividade dos receptores GABA-A, intensificando efeitos inibitórios como sedação, relaxamento e desinibição comportamental, enquanto reduz a atividade de receptores glutamatérgicos ionotrópicos, como NMDA e AMPA, diminuindo a excitabilidade neuronal (Vengeliene et al., 2008; Costardi et al., 2015).

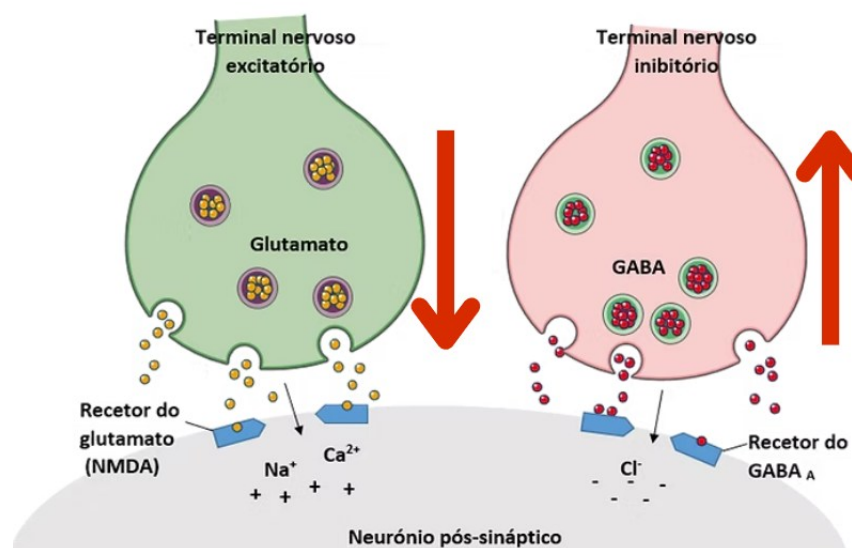


Figure 1: Neurotransmissão glutamatérgica e GABAérgica. Fonte: Jones, 2003 (Adaptado).

Essas alterações na transmissão sináptica contribuem para diversos efeitos comportamentais do álcool, incluindo desinibição social, prejuízos cognitivos e alterações no controle comportamental. Evidências indicam que o etanol também pode afetar regiões do córtex pré-frontal, levando a alterações no metabolismo cerebral, como redução do fluxo sanguíneo e da utilização de glicose, o que compromete funções executivas relacionadas ao julgamento, tomada de decisão e controle inibitório (Bento, 2015; Vogel-Sprott et al., 2001).

É importante salientar que o etanol exerce efeitos importantes sobre o sistema de recompensa cerebral, particularmente no circuito dopaminérgico mesolímbico. Nesse circuito, neurônios dopaminérgicos localizados na área tegmental ventral (VTA) projetam-se para estruturas como o núcleo accumbens (NAC), onde ocorre aumento da liberação de dopamina em resposta a estímulos reforçadores, incluindo drogas de abuso (Figura 2). O etanol favorece essa liberação dopaminérgica ao reduzir a inibição exercida por interneurônios GABAérgicos sobre esses neurônios, contribuindo para os efeitos gratificantes da substância e para o reforço positivo associado ao consumo (Spanagel, 2020; Vázquez-León et al., 2021).

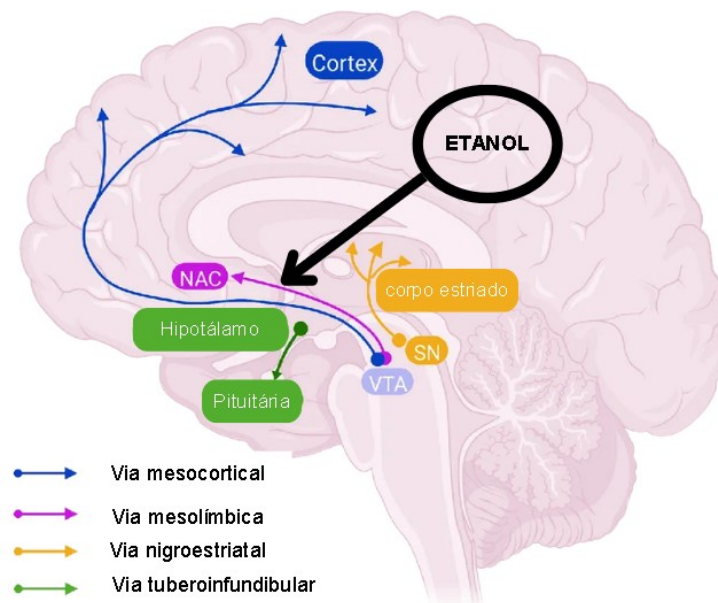


Figure 2: Vias dopaminérgicas do cérebro. Fonte: Klein et al., 2019 (Adaptado).

Outro sistema relevante na modulação dos efeitos do etanol é o sistema endocanabinoide (eCB), que atua na regulação da transmissão sináptica e na modulação de circuitos envolvidos em recompensa, estresse e emoções. Esse sistema é composto principalmente pelos endocanabinoides anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG), além dos receptores canabinoides CB1 e CB2. No sistema nervoso central, os receptores CB1 estão amplamente distribuídos em regiões como córtex pré-frontal, amígdala, hipocampo e gânglios da base, onde regulam a liberação de neurotransmissores como glutamato, GABA e dopamina. Evidências indicam que o etanol pode alterar a sinalização endocanabinoide em diferentes regiões cerebrais, contribuindo para processos de reforço, tolerância e dependência (Basavarajappa, 2019; Lowe et al., 2021).

Alterações nesses sistemas neuroquímicos também estão associadas a mudanças em circuitos cerebrais envolvidos na regulação do estresse e das emoções, incluindo estruturas como amígdala, núcleo do leito da estria terminal (BNST) e substância cinzenta periaquedutal (PAG). Essas regiões participam da modulação de respostas relacionadas ao medo, ansiedade e comportamento defensivo, sendo frequentemente recrutadas durante estados de abstinência alcoólica e contribuindo para o desenvolvimento de estados emocionais negativos associados ao transtorno por uso de álcool (Vázquez-León et al., 2021; Bedse et al., 2019).

1.2. Transtorno por uso de álcool (TUA)

O Transtorno por Uso de Álcool (TUA) está inserido em um conjunto mais amplo de condições denominadas Transtornos por Uso de Substâncias (TUS), que englobam o uso problemático de diferentes substâncias psicoativas, como álcool, nicotina, opioides e outras drogas. Os TUS representam um importante marco conceitual na psiquiatria contemporânea, sendo caracterizados por padrões disfuncionais de consumo associados a prejuízos clínicos e sociais significativos. (American Psychiatric Association, 2013). Nesse sentido, o TUA constitui uma das formas mais prevalentes e relevantes desse grupo de transtornos, sendo o foco do presente estudo devido ao seu elevado impacto na saúde pública e às suas consequências neurocomportamentais.

O TUA é caracterizado por um padrão problemático de consumo alcoólico associado a prejuízos clínicos significativos ou sofrimento, incluindo perda de controle sobre a ingestão, desejo intenso de consumo (fissura, do inglês: *craving*), desenvolvimento de tolerância e sintomas de abstinência (Koob; Volkow, 2016). De acordo com o *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-5), o diagnóstico baseia-se na presença de critérios comportamentais, fisiológicos e cognitivos que indicam comprometimento no controle do uso da substância e persistência do consumo apesar de consequências negativas.

Além disso, o DSM-5 (do inglês: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Fifth Edition*), um manual de diagnóstico, utilizado como referência para a classificação dos transtornos mentais pela psiquiatria, propõe uma classificação dimensional da gravidade do transtorno, baseada no número de critérios atendidos: leve (2 a 3 critérios), moderado (4 a 5 critérios) e grave (6 ou mais critérios). Esses critérios, demonstrados na Tabela 1, abrangem diferentes domínios relacionados ao padrão de uso da substância, incluindo prejuízo no controle do consumo (como dificuldade em reduzir ou interromper o uso), comprometimento social (como prejuízos em atividades ocupacionais e interpessoais), uso em situações de risco, além de aspectos farmacológicos, como o desenvolvimento de tolerância e sintomas de abstinência. Essa abordagem permite uma avaliação mais precisa do grau de comprometimento do indivíduo, considerando não apenas a presença do transtorno, mas também sua intensidade clínica (American Psychiatric Association, 2014).

1	A substância é frequentemente consumida em maiores quantidades ou por um período mais longo do que o pretendido.
2	Existe um desejo persistente ou esforços malsucedidos no sentido de reduzir ou controlar o uso da substância.
3	Muito tempo é gasto em atividades necessárias para a obtenção da substância, na utilização da droga ou na recuperação de seus efeitos.
4	Uso recorrente da substância, resultando no fracasso em desempenhar papéis importantes no trabalho, na escola ou em casa.
5	Uso continuado da substância, apesar de problemas sociais ou interpessoais persistentes ou recorrentes causados ou exacerbados por seus efeitos.
6	Importantes atividades sociais, profissionais ou recreacionais são abandonadas ou reduzidas em virtude do uso da substância.
7	Uso recorrente da substância em situações nas quais isso representa perigo para a integridade física.
8	O uso da substância é mantido apesar da consciência de ter um problema físico ou psicológico persistente ou recorrente que tende a ser causado ou exacerbado pela droga.
9	Tolerância: necessidade de quantidades progressivamente maiores da substância para alcançar a intoxicação ou o efeito desejado.
10	Síndrome de abstinência.

Tabela 1: Critérios definidos pelo DMS-5 para o diagnóstico do transtorno por uso de substâncias. Fonte: Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM), 5ª ed., 2014.

Nesse sentido, o TUA, bem como os demais transtornos envolvendo outras substâncias (TUS) são considerados transtornos crônicos e recorrentes, nos quais a interrupção ou redução do consumo de álcool pode desencadear a síndrome de abstinência, caracterizada por manifestações neuroquímicas, comportamentais e físicas, como tremores, agitação e delírios (Airagnes et al., 2019). Além disso, indivíduos dependentes frequentemente apresentam estados emocionais negativos, como ansiedade e irritabilidade, especialmente durante períodos de abstinência, o que contribui para a manutenção e/ou retorno do comportamento de busca pela substância e aumenta o risco de recaídas (Koob, 2016).

Adicionalmente, o TUA apresenta forte associação com transtornos psiquiátricos, caracterizando um quadro de comorbidade, especialmente os transtornos de ansiedade. Evidências indicam que o consumo crônico de álcool pode levar ao surgimento de estados emocionais negativos, como ansiedade e disforia, particularmente durante períodos de abstinência, favorecendo um ciclo no qual o consumo de álcool é utilizado como tentativa de aliviar esses estados aversivos (Gilpin; Koob, 2008).

Esses achados destacam a importância de compreender fatores que aumentam a vulnerabilidade ao desenvolvimento do TUA, especialmente durante períodos críticos do desenvolvimento cerebral, como a adolescência (Spear, 2000; Spear, 2018).

1.3. Epidemiologia do TUA

Os problemas relacionados ao Transtorno por Uso de Álcool (TUA) representam um importante desafio para a saúde pública global, sendo responsáveis por uma parcela significativa da carga mundial de doenças e da mortalidade associada ao consumo nocivo dessa substância (OMS, 2024).

O álcool é a substância psicoativa mais consumida no mundo. Estima-se que aproximadamente 40% da população mundial com mais de 15 anos consuma bebidas alcoólicas anualmente, o que corresponde a cerca de dois bilhões de pessoas. Dentre essas, aproximadamente 2 a 2,5 milhões de mortes por ano estão associadas ao consumo de álcool e às suas consequências para a saúde (Andrade; Anthony; Silveira, 2009).

No Brasil, o consumo de álcool também representa um importante fator de risco para a saúde. Dados indicam que aproximadamente 6,2% dos óbitos no país estão relacionados ao uso de bebidas alcoólicas (Andrade et al., 2025). Além disso, o álcool ocupa a terceira posição entre os principais fatores de risco para carga de doenças no país e a quarta posição em nível global, sendo superado apenas por tabagismo, hipertensão arterial e obesidade, segundo estimativas do estudo *Global Burden of Disease 2019* (Freitas; Stopa; Silva, 2023).

Apesar de ser uma substância legalmente controlada, o álcool permanece amplamente disponível e frequentemente consumido entre adolescentes. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, cerca de 23,5% dos adolescentes em todo o mundo relatam consumo de álcool, com as maiores prevalências observadas nas regiões da Europa (45,9%) e das Américas (43,9%). No Brasil, apesar da proibição da venda de bebidas alcoólicas para menores de 18 anos, o uso nessa faixa etária permanece elevado (Rassool; Winnington, 2003). Dados do III Levantamento Nacional sobre Uso de Drogas (LNUD), realizado pela Fiocruz, indicam que aproximadamente 5% dos adolescentes entre 12 e 17 anos e 20,5% dos jovens entre 18 e 24 anos relataram ao menos um episódio de consumo episódico excessivo de álcool (*binge drinking*) nos últimos 30 dias (Bastos et al., 2017). O *binge drinking*, é caracterizado pela ingestão de grandes quantidades em um curto intervalo de tempo, geralmente quatro ou mais doses para mulheres e cinco ou mais para homens em uma única ocasião, estando associado ao aumento do risco de prejuízos comportamentais, cognitivos e físicos (National Institute on

Alcohol Abuse and Alcoholism, 2021).

Diante desse cenário, a elevada prevalência do consumo de álcool entre adolescentes torna-se particularmente preocupante, visto que a exposição precoce à substância está associada a maior vulnerabilidade ao desenvolvimento de transtornos relacionados ao uso de álcool e a alterações neurocomportamentais na vida adulta (Spear, 2018).

1.4. Adolescência como janela de vulnerabilidade

A adolescência corresponde ao período de transição entre a infância e a vida adulta, caracterizado por intensas mudanças biológicas, comportamentais e sociais. Parte desse período é marcada pela puberdade, fase associada à ativação de glândulas hormonais e a uma cascata de eventos fisiológicos que levam à maturação sexual. No entanto, a adolescência não se limita às alterações reprodutivas, envolvendo também importantes processos de reorganização do sistema nervoso central e de desenvolvimento cognitivo e emocional (Sawyer et al., 2018; Vijayakumar et al., 2018).

A fase da adolescência é, portanto, um período crítico de maturação cognitiva, emocional e social, além de representar uma etapa relevante no desenvolvimento cerebral, caracterizada por intensas mudanças na densidade sináptica e na conectividade neural, as quais contribuem para a reorganização dos circuitos neurais, por meio do fortalecimento de conexões mais utilizadas e da eliminação de conexões pouco ativas, favorecendo maior eficiência na comunicação neuronal e o desenvolvimento de funções mentais mais complexas. As características cognitivas desse estágio incluem maior sensibilidade à recompensa, busca por sensações e comportamentos impulsivos, associados a uma capacidade ainda limitada de autocontrole. Esse conjunto de fatores favorece a adoção de comportamentos de risco, como a experimentação e a intensificação do consumo de álcool (Lees et al., 2020).

Durante a adolescência ocorre um processo significativo de neurodesenvolvimento que se estende aproximadamente até os 25 anos de idade. Nesse período, diversos sistemas de neurotransmissores passam por importantes modificações. Observa-se, por exemplo, aumento das projeções dopaminérgicas em regiões límbicas e frontais, o que torna os adolescentes particularmente responsivos a estímulos recompensadores. Em contrapartida, o controle inibitório ainda se encontra em desenvolvimento, em parte devido à menor atividade de sistemas inibitórios, como o GABAérgico, em regiões do córtex pré-frontal. Essa combinação entre hipersensibilidade à recompensa e menor controle inibitório contribui para maior propensão à busca por novidades e comportamentos de risco, incluindo o consumo de álcool

(Lees et al., 2020).

Nesse contexto, a adolescência é considerada uma janela crítica de vulnerabilidade para os efeitos de substâncias psicoativas. Evidências indicam que adolescentes apresentam maior sensibilidade aos efeitos estimulantes do etanol e menor sensibilidade aos seus efeitos sedativos e aversivos, o que pode favorecer padrões de consumo mais intensos e repetidos nessa fase da vida (Spear; Varlinskaya, 2004; Davis et al., 2021).

A exposição ao etanol durante esse período pode produzir efeitos neurobiológicos particularmente relevantes, uma vez que ocorre em uma fase de intensa reorganização de circuitos neurais envolvidos na regulação das emoções, da motivação e do comportamento. Estudos indicam que o consumo de álcool na adolescência pode interferir em circuitos neurais relacionados a transtornos emocionais, como ansiedade e depressão, além de aumentar a vulnerabilidade ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos na própria adolescência e ao longo da vida (Ehlers et al., 2013; Paus; Keshavan; Giedd, 2008).

Além disso, evidências experimentais demonstram que a exposição ao álcool durante a adolescência pode produzir alterações persistentes que se estendem até a vida adulta, incluindo mudanças na neurotransmissão dopaminérgica, prejuízos cognitivos e aumento de comportamentos relacionados à ansiedade e ao consumo de álcool. Essas alterações parecem envolver modificações duradouras em regiões cerebrais como o córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo, estruturas essenciais para a regulação emocional e tomada de decisão (Crews; Vetreno; Broadwater, 2016; Spear, 2018).

Dessa forma, a adolescência é reconhecida como um período particularmente sensível aos efeitos do álcool, no qual a exposição à substância pode promover alterações duradouras na função cerebral e no comportamento, aumentando o risco para o desenvolvimento de transtornos relacionados ao uso de álcool e outros transtornos psiquiátricos na vida adulta (Spear, 2018).

1.5. Transtorno de ansiedade

Os transtornos de ansiedade estão entre os transtornos mentais mais prevalentes no mundo, representando importante problema de saúde pública devido ao impacto significativo na qualidade de vida dos indivíduos e aos elevados custos sociais e econômicos associados (Bateson; Brilot; Nettle, 2011).

A ansiedade pode ser compreendida como uma resposta emocional e fisiológica adaptativa frente a situações percebidas como ameaçadoras ou desafiadoras. Em condições

normais, essa resposta desempenha papel fundamental para a sobrevivência, pois prepara o organismo para lidar com potenciais perigos, promovendo estados de alerta, vigilância e mobilização de recursos fisiológicos necessários para enfrentar ou evitar ameaças (Blanchard, 1993; Craske et al., 2017).

Entretanto, a ansiedade torna-se patológica quando sua intensidade, duração ou frequência são desproporcionais à situação desencadeadora ou quando ocorre na ausência de estímulos reais de ameaça. Nessas condições, os indivíduos podem apresentar respostas exacerbadas de medo, preocupação excessiva e hipervigilância, frequentemente acompanhadas de manifestações fisiológicas, como taquicardia, sudorese, alterações gastrointestinais, tensão muscular e dificuldade de concentração (Castillo et al., 2000; Lent, 2001).

Os transtornos de ansiedade estão frequentemente associados a prejuízos significativos no funcionamento social, acadêmico e ocupacional, podendo contribuir para isolamento social, desenvolvimento de outros transtornos psiquiátricos e aumento do risco de comportamentos relacionados ao uso de substâncias (Gonçalves; Kapczinski, 2008). Nesse contexto, observa-se uma relação bidirecional entre ansiedade e consumo de álcool. Embora o etanol possa produzir efeitos ansiolíticos em doses baixas, levando alguns indivíduos a utilizá-lo, de forma perigosa e sem indicação farmacológica, como estratégia de enfrentamento em situações sociais ou estressantes, o consumo crônico de álcool pode, paradoxalmente, aumentar a vulnerabilidade ao desenvolvimento e agravamento de transtornos de ansiedade (Cui; Koob, 2017; Buckner et al., 2020; Crews et al., 2016).

Essa interação entre ansiedade e consumo de álcool é particularmente relevante, uma vez que ambos os fenômenos compartilham circuitos neurais relacionados ao processamento emocional, à resposta ao estresse e aos sistemas de recompensa cerebral. Dessa forma, compreender os mecanismos que relacionam a exposição ao álcool com alterações em comportamentos do tipo-ansiedade torna-se fundamental para o entendimento das bases neurobiológicas desses transtornos (Anker; Kushner, 2019; Koob; Volkow, 2016).

1.6. Epidemiologia dos transtornos de ansiedade

Estimativas epidemiológicas indicam que os transtornos de ansiedade afetam aproximadamente 4,5% da população mundial, o que corresponde a cerca de 300 milhões de indivíduos, representando uma das principais causas de carga global de doenças mentais (Javaid et al., 2023). Outrossim, observa-se um aumento expressivo na prevalência desses transtornos nas últimas décadas, associado a fatores sociais, econômicos e ambientais.

No Brasil, dados da Organização Mundial da Saúde indicam que cerca de 9,3% da população apresenta transtornos de ansiedade, correspondendo a aproximadamente 18,5 milhões de indivíduos, configurando o país com uma das maiores prevalências desses transtornos no mundo (Organização Mundial da Saúde, 2019). Estudos epidemiológicos nacionais também evidenciam elevada ocorrência desses transtornos, com prevalências que podem variar entre aproximadamente 18,8% e 20,8% em centros urbanos, como São Paulo e Rio de Janeiro (Ribeiro et al., 2013; Costa et al., 2019).

Destaca-se a existência de diferença na distribuição desses transtornos entre os sexos, sendo mais frequentes em mulheres, enquanto o uso abusivo de substâncias, incluindo o álcool, apresenta maior prevalência em homens (Andrade et al., 2002). Essa diferença é relevante, uma vez que evidencia perfis distintos de vulnerabilidade e exposição a fatores de risco.

Adicionalmente, estudos demonstram elevada comorbidade entre transtornos de ansiedade e transtorno por uso de álcool, sendo estimado que indivíduos com transtornos de ansiedade apresentam maior risco de desenvolver problemas relacionados ao consumo de álcool ao longo da vida. Da mesma forma, indivíduos com transtorno por uso de álcool apresentam maior prevalência de sintomas ansiosos, evidenciando uma sobreposição significativa entre essas condições em estudos populacionais (Smith; Randall, 2012).

1.7. Modelos Etológicos

Os transtornos de ansiedade envolvem alterações complexas em circuitos neurais e no comportamento, o que torna sua investigação direta em humanos limitada por questões éticas e metodológicas. Nesse contexto, modelos animais têm sido amplamente utilizados como ferramentas experimentais para o estudo dos mecanismos neurobiológicos e comportamentais associados a esses transtornos, permitindo maior controle das variáveis e análise detalhada das respostas observadas (Campos, 2013; Czéh, 2016).

Entre esses modelos, destacam-se os modelos etológicos, que se baseiam na observação de comportamentos naturais exibidos por camundongos, como exploração, evitação e interação social. Essas respostas refletem estados emocionais relacionados à ansiedade e permitem a inferência de alterações comportamentais de forma indireta, a partir de situações que envolvem novidade ou conflito motivacional (Blanchard et al., 2001; Cryan; Sweeney, 2011).

Diversos testes comportamentais foram desenvolvidos com base nesses princípios, possibilitando a avaliação de diferentes aspectos do comportamento do tipo-ansiedade. A

sociabilidade, por exemplo, constitui um parâmetro relevante, uma vez que alterações nesse comportamento estão associadas a diferentes transtornos psiquiátricos, incluindo os transtornos de ansiedade (O'Tuathaigh et al., 2007; Raulo; Dantzer, 2018).

Nesse sentido, testes como o Teste de Interação Social e o Teste de Supressão de Alimentação induzida pela novidade são amplamente utilizados para avaliar comportamentos relacionados à ansiedade em roedores. Esses testes permitem investigar alterações na interação social e na resposta a ambientes novos, sendo ferramentas importantes para a compreensão de estados emocionais e dos mecanismos envolvidos nessas respostas (Rosso et al., 2022).

Apesar das evidências sobre os efeitos do álcool durante a adolescência, a relação entre a intoxicação alcoólica nesse período e alterações comportamentais do tipo-ansiedade na vida adulta ainda não está completamente elucidada. Em especial, são escassos os estudos que avaliam as consequências da exposição precoce ao etanol sobre respostas comportamentais relacionadas à regulação emocional. Nesse contexto, torna-se relevante investigar os efeitos da intoxicação alcoólica nas respostas comportamentais relacionadas à ansiedade em camundongos adultos previamente expostos ao etanol durante a adolescência.

2. JUSTIFICATIVA

O Transtorno por Uso de Álcool (TUA) representa um importante problema de saúde pública, uma vez que o álcool permanece como a substância psicoativa mais consumida globalmente. Seu uso configura um desafio significativo para os sistemas de saúde, não apenas pelos custos econômicos envolvidos, mas também pelos impactos sociais e prejuízos à qualidade de vida dos indivíduos e de suas famílias. Em nível populacional, padrões de consumo nocivo ou excessivo contribuem significativamente para o aumento da carga global de doenças e mortalidade (Organização Mundial da Saúde, 2024).

Paralelamente, os transtornos de ansiedade figuram entre os transtornos mentais mais prevalentes no mundo, sendo responsáveis por elevado ônus social, econômico e funcional. Estima-se que uma parcela significativa da população mundial viva com algum transtorno mental, incluindo os transtornos de ansiedade, que frequentemente se associam a prejuízos no funcionamento diário e na qualidade de vida (Organização Mundial da Saúde, 2022; Lowe et al., 2021).

Ainda nessa perspectiva, evidências indicam que existe uma importante associação entre o consumo de álcool e os transtornos de ansiedade, sendo comum a coexistência dessas condições. Indivíduos com uso problemático de álcool frequentemente apresentam sintomas ansiosos, enquanto a presença de ansiedade pode favorecer padrões de consumo disfuncionais, contribuindo para a manutenção e agravamento de ambos os quadros (Anker; Kushner, 2019).

Adicionalmente, o consumo de bebidas alcoólicas durante a adolescência representa uma preocupação crescente, uma vez que esse período constitui uma fase crítica do desenvolvimento cerebral. A exposição precoce ao etanol está associada a maior vulnerabilidade a alterações comportamentais e ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos na vida adulta, sendo influenciada, entre outros fatores, pela ampla disponibilidade e pela exposição a estratégias de marketing relacionadas ao consumo de bebidas alcoólicas (Organização Mundial da Saúde, 2022).

Nesse contexto, torna-se importante investigar os efeitos da intoxicação alcoólica durante a adolescência sobre comportamentos do tipo-ansiedade na vida adulta. Assim, o presente estudo busca contribuir para a compreensão dessas alterações por meio da avaliação de respostas comportamentais em camundongos adultos previamente expostos ao etanol durante a adolescência, fornecendo subsídios para o entendimento dos mecanismos envolvidos e para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e intervenção.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da intoxicação alcoólica durante a adolescência sobre as respostas comportamentais do tipo-ansiedade em camundongos adultos, por meio de testes comportamentais específicos.

3.2. Objetivos específicos

- Investigar alterações no comportamento social como indicador de ansiedade por meio do Teste de Interação Social.
- Avaliar a resposta a ambiente novo como indicador de ansiedade por meio do Teste de Supressão de Alimentação induzida pela novidade.
- Comparar os efeitos da exposição ao etanol na adolescência sobre o comportamento do tipo-ansiedade na vida adulta.
- Verificar a influência do sexo nas respostas comportamentais avaliadas.

4. METODOLOGIA

4.1. Modelo Animal

Foram utilizados camundongos da linhagem C57BL/6J (n = 24), provenientes da Rede de Biotérios de Roedores da Universidade Federal de Uberlândia (REBIR/UFU), sendo os experimentos realizados nas dependências da própria instituição. Os animais foram distribuídos igualmente quanto ao sexo, sendo 12 machos e 12 fêmeas. Os camundongos foram recebidos no dia pós-natal 21 (DPN 21) e mantidos no biotério por, no mínimo, sete dias para adaptação ao ambiente, com início dos procedimentos experimentais no DPN 28, correspondente ao período inicial da adolescência em roedores (Spear, 2000; Laviola et al., 2003).

Os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura (21 ± 2 °C) e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso à água e ração, exceto durante a realização dos testes. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes estabelecidas pelos Princípios de Cuidados com Animais de Laboratório. Durante o protocolo experimental, quatro animais foram a óbito, totalizando 20 animais ao final do experimento, sendo 11 pertencentes ao grupo intoxicado e 9 ao grupo controle.

4.2. Substâncias

- Etanol (Sigma-Aldrich®, 95% v/v, St. Louis, MO, EUA). A dose de 3,5 g/kg foi obtida a partir de uma solução de etanol a 20% (v/v), administrada por via intraperitoneal durante o protocolo experimental.

- Isoflurano a 4%, administrado por via inalatória para indução anestésica.

- Solução salina 0,9% (NaCl), utilizada como veículo para o grupo controle.

4.3. Protocolo de Intoxicação Alcoólica

O protocolo de intoxicação alcoólica utilizado neste estudo foi adaptado de Vore et al. (2017), com o objetivo de promover a exposição dos animais ao etanol durante o período correspondente à adolescência e possibilitar a avaliação das consequências dessa exposição sobre o comportamento na vida adulta.

No protocolo experimental, os animais receberam injeções intraperitoneais de solução salina 0,9% (grupo controle) ou etanol (3,5 g/kg; i.p.) (grupo intoxicado). O delineamento experimental foi estruturado de modo a garantir a administração repetida de etanol durante a

adolescência, fase considerada crítica para o desenvolvimento neurobiológico e comportamental.

A escolha pela administração de etanol por via intraperitoneal, em detrimento de modelos baseados na ingestão voluntária, fundamenta-se na necessidade de maior controle experimental da dose administrada, ajustada ao peso corporal de cada animal, reduzindo a variabilidade individual. Além disso, protocolos de consumo voluntário geralmente demandam períodos experimentais prolongados, o que poderia ultrapassar a janela da adolescência, foco deste estudo, bem como apresentar perdas experimentais decorrentes da não aquisição do comportamento de ingestão por parte de alguns animais. Do ponto de vista toxicológico, a intoxicação etanólica corresponde a um estado agudo decorrente da ação do etanol no sistema nervoso central, caracterizado por efeitos semelhantes à embriaguez, como desinibição comportamental, prejuízos motores e alterações cognitivas (Vengeliene; Bilbao; Spanagel, 2014).

O protocolo consistiu em quatro ciclos de intoxicação/abstinência (Figura 3), com duração de seis dias cada. Durante os três primeiros dias de cada ciclo, os animais receberam uma administração diária de etanol ou salina, seguidos por três dias consecutivos de abstinência, período no qual não houve administração de substâncias.

Após cada administração de etanol, foi avaliada a perda do reflexo postural, caracterizada pela incapacidade do animal de se posicionar adequadamente sobre as quatro patas.

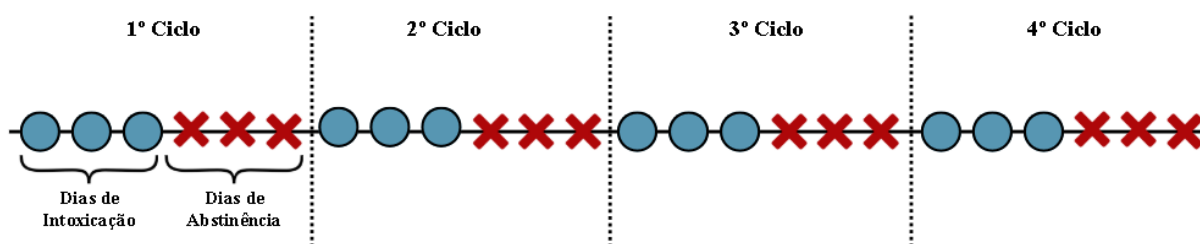


Figure 3: Esquema representativo dos ciclos de intoxicação alcoólica. Fonte: Autoria própria.

4.4. Teste Comportamentais

Após a finalização dos quatro ciclos de intoxicação/abstinência, foram realizados os testes comportamentais para avaliação das respostas do tipo-ansiedade na fase adulta dos animais que, segundo Laviola et al. 2003, corresponde ao 60º DPN. Os camundongos foram

distribuídos em grupo controle (salina 0,9%) e grupo intoxicado (etanol), conforme o protocolo previamente descrito.

A Figura 4 apresenta o delineamento experimental dos testes comportamentais, indicando a sequência temporal das avaliações realizadas, incluindo o Teste de Interação Social (TIS) e do Teste de Supressão de Alimentação induzida pela novidade, ou do inglês Novelty Suppressed Feeding (NSF).

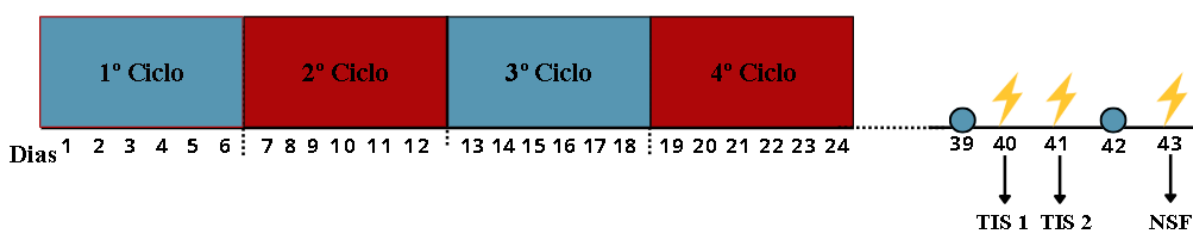


Figure 4: Esquema representativo do protocolo para avaliação de comportamentos do tipo ansiosos. Fonte: Autoria própria.

4.4.1. Teste de Interação Social

Uma das formas de avaliação de comportamentos relacionados à ansiedade foi por meio do Teste de Interação Social (TIS). Nesse teste, o comportamento do tipo ansiolítico é inferido pelo aumento no tempo de interação social, desde que a atividade motora geral permaneça inalterada. Em contrapartida, o comportamento do tipo-ansio gênico é caracterizado pela redução no tempo de interação social, sem alterações significativas na locomoção (Pentkowski et al., 2021). O teste baseia-se na análise das respostas de aproximação e evitação frente a estímulos sociais, permitindo a avaliação de aspectos relacionados à sociabilidade e à preferência por novidade social, conforme descrito por Hoffman (2016).

O delineamento experimental do TIS permitiu avaliar dois aspectos principais do comportamento social: a sociabilidade, definida como a propensão do animal experimental a permanecer mais tempo interagindo com um coespecífico não familiar, do mesmo sexo, do que com um compartimento vazio, e a preferência por novidade social, caracterizada pela tendência do animal experimental a interagir mais com um animal desconhecido, igualmente do mesmo sexo, do que com um animal previamente familiarizado.

O protocolo foi composto por uma etapa de habituação e por dois testes consecutivos. A habituação foi realizada 24 horas antes do início dos testes, com duração de 5 minutos, na qual o animal experimental foi exposto ao aparato com os compartimentos abertos e as gaiolas metálicas vazias, permitindo a familiarização com o ambiente, como mostrado na Figura 5a.

Após a habituação, os animais receberam uma nova administração de etanol ou salina, seguindo os mesmos parâmetros previamente estabelecidos. Essa intoxicação prévia foi realizada com o objetivo de reproduzir uma condição de reexposição à substância após período de abstinência, permitindo investigar a expressão comportamental dos efeitos decorrentes da exposição alcoólica prévia durante a adolescência.

No 40º dia do protocolo, foi realizado o Teste 1, com o objetivo de avaliar a sociabilidade. O Animal Controle 1 foi posicionado dentro de uma gaiola de metal no compartimento A (CA), enquanto no compartimento C (CC) foi posicionada uma gaiola de metal vazia, como ilustrado na Figura 5b. O animal experimental foi colocado no compartimento central (CB), inicialmente com as divisórias fechadas. Em seguida, as divisórias foram removidas, permitindo a livre exploração do aparato por um período de 10 minutos.

No 41º dia do protocolo, foi realizado o Teste 2, destinado à avaliação da preferência por novidade social, esquematizado na Figura 5c. O Animal Controle 1 foi reposicionado no compartimento C (CC), sendo considerado o animal familiar, enquanto um novo animal controle (Animal Controle 2) foi colocado no compartimento A (CA), representando o animal não familiar. O animal experimental foi novamente posicionado no compartimento central (CB), com as divisórias inicialmente fechadas e, em seguida, removidas para permitir a exploração livre do aparato durante 10 minutos.

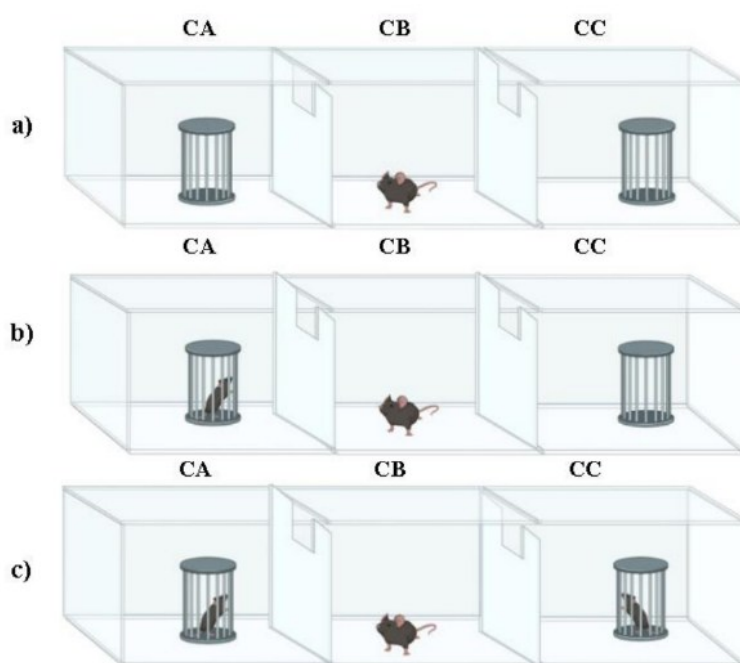


Figure 5: Representação esquemática do aparato utilizado no Teste de Interação Social (TIS). (a): Na etapa de habituação, o animal experimental foi exposto ao aparato com as gaiolas vazias. (b): No Teste 1, um animal controle foi posicionado em um dos compartimentos, enquanto o compartimento oposto permaneceu com a gaiola vazia, permitindo a avaliação da sociabilidade. (c): No Teste 2, um novo animal controle foi introduzido no

compartimento oposto, possibilitando a avaliação da preferência por novidade social. Fonte: Autoria própria com a utilização do software Biorender®.

Foram avaliados parâmetros comportamentais relacionados à interação social e à exploração do ambiente, incluindo a duração total dos contatos diretos entre o animal experimental e os estímulos presentes no aparato. No Teste 1, foram analisados os contatos com a gaiola de metal vazia e com o Animal Controle 1, enquanto, no Teste 2, foram avaliados os contatos com o Animal Controle 1 (animal familiar) e com o Animal Controle 2 (animal não familiar). Além disso, foi analisado o tempo total de permanência do animal experimental em cada compartimento do aparato.

Vinte e quatro horas após a realização do Teste 2 (42º dia do protocolo), foi conduzido mais um dia do protocolo de intoxicação alcoólica, seguindo os parâmetros previamente descritos. Após outras 24 horas (43º dia do protocolo), foi realizado o Teste de Supressão de Alimentação induzida pela novidade.

4.4.2. Teste de supressão de Alimentação induzida pela novidade

No NSF, a latência para se aproximar do alimento e iniciar sua ingestão reflete como o animal lida com um conflito comportamental entre a motivação para se alimentar e o medo de explorar um ambiente novo, sendo esse comportamento inversamente relacionado a respostas do tipo-ansiedade, uma vez que animais com maior nível de ansiedade tendem a postergar a aproximação do alimento devido à aversão ao ambiente aberto e iluminado, enquanto animais menos ansiosos apresentam menor latência para iniciar a alimentação (Pentkowski et al., 2021).

Os camundongos foram pesados, e todo o alimento foi removido de suas gaiolas 24 horas antes do teste, enquanto a água permaneceu disponível ad libitum. Durante o teste, os camundongos foram colocados individualmente em uma caixa de plástico branca (40 cm × 36 cm × 15 cm), cujo piso foi coberto com maravalha, a qual foi substituída a cada animal, a fim de evitar interferências olfativas entre os camundongos.

Um pequeno pellet de ração foi posicionado no centro da arena sobre um papel filtro branco, sob iluminação direta proveniente de uma lâmpada posicionada acima do aparato, criando uma condição aversiva moderada característica desse teste comportamental. No início do teste, cada animal foi colocado em um dos cantos da caixa de forma padronizada (Figura 6).

Durante o período de observação de 6 minutos, foram registradas a latência para iniciar a alimentação e a duração do comportamento alimentar. O peso do pellet de ração e o peso dos animais foram mensurados antes e após a realização do teste.

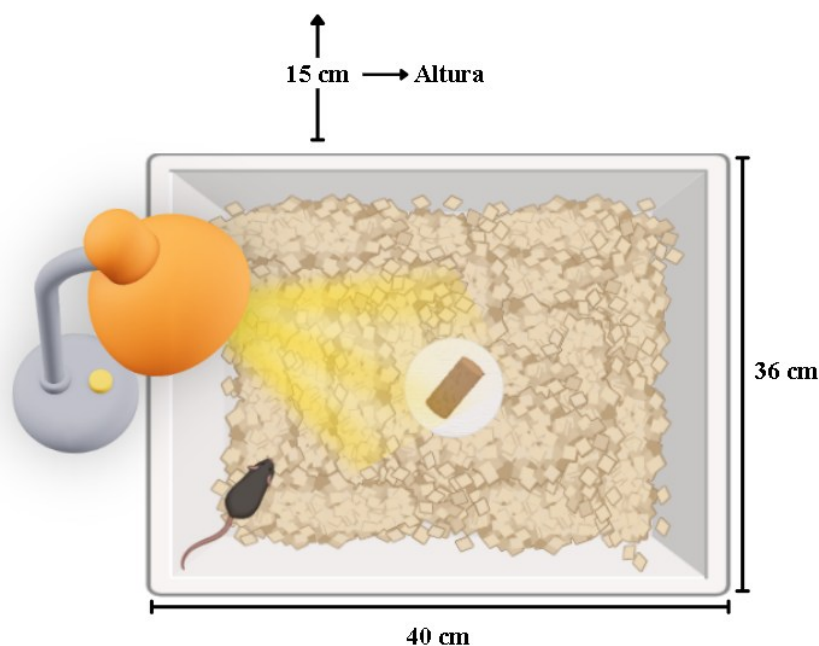


Figure 6: Representação do aparato do Teste Supressão de Alimentação induzida pela novidade. Fonte: Autoria própria com a utilização do software Biorender®.

4.5. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism versão 8.1, e os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Para a análise inicial das respostas comportamentais, os animais foram agrupados de acordo com o tratamento recebido, independentemente do sexo, sendo comparados os grupos, intoxicado e controle, por meio do teste t de Student para amostras independentes.

Em seguida, as possíveis diferenças entre os sexos foram avaliadas por análise de variância de duas vias (two-way ANOVA), considerando os fatores tratamento (solução salina ou etanol) e sexo. Quando identificados efeitos principais ou interações significativas, foi aplicado o teste post hoc de Sidak para comparações múltiplas entre os grupos. Foram considerados estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$.

4.6. Aspectos éticos na utilização de animais

Os experimentos realizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia, sob o protocolo número 23117.030582/2025-11 (anexo A).

5. RESULTADOS

5.1. Análise comportamental considerando os grupos controle e intoxicado

Inicialmente, as análises comportamentais foram realizadas comparando-se os grupos controle e intoxicado, independentemente do sexo dos animais. A Figura 7 apresenta os parâmetros comportamentais avaliados durante o teste de interação social na fase inicial (TIS 1), incluindo a duração do contato com a gaiola vazia, a duração do contato com o animal, bem como o tempo de permanência nos compartimentos C e A. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle (salina; $n = 9$) e intoxicado (álcool; $n = 11$) em nenhum dos parâmetros avaliados ($p > 0,05$; teste t de Student).

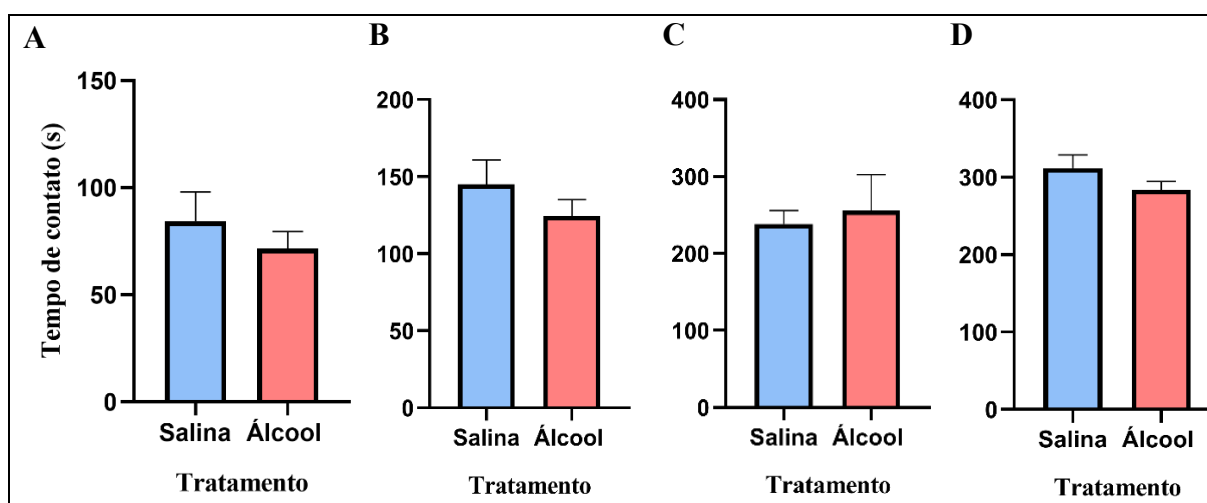


Figure 7: Parâmetros comportamentais avaliados durante o teste de interação social na fase inicial (TIS 1), incluindo a duração do contato com a gaiola vazia (A), a duração do contato com o animal (B), o tempo de permanência no compartimento C (C) e o tempo de permanência no compartimento A (D). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Grupo controle (salina; $n = 9$) e grupo intoxicado (álcool; $n = 11$). As análises estatísticas foram realizadas por meio do teste t de Student para amostras independentes, considerando-se significativos valores de $p < 0,05$.

A Figura 8 mostra os parâmetros comportamentais avaliados durante o teste de interação social na fase 2 (TIS 2), incluindo a duração do contato com o animal controle no compartimento C, a duração do contato com o animal não familiar no compartimento A, bem como o tempo de permanência nos compartimentos C e A. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle (salina; $n = 9$) e intoxicado (álcool; $n = 11$) em nenhum dos parâmetros avaliados ($p > 0,05$; teste t de Student).

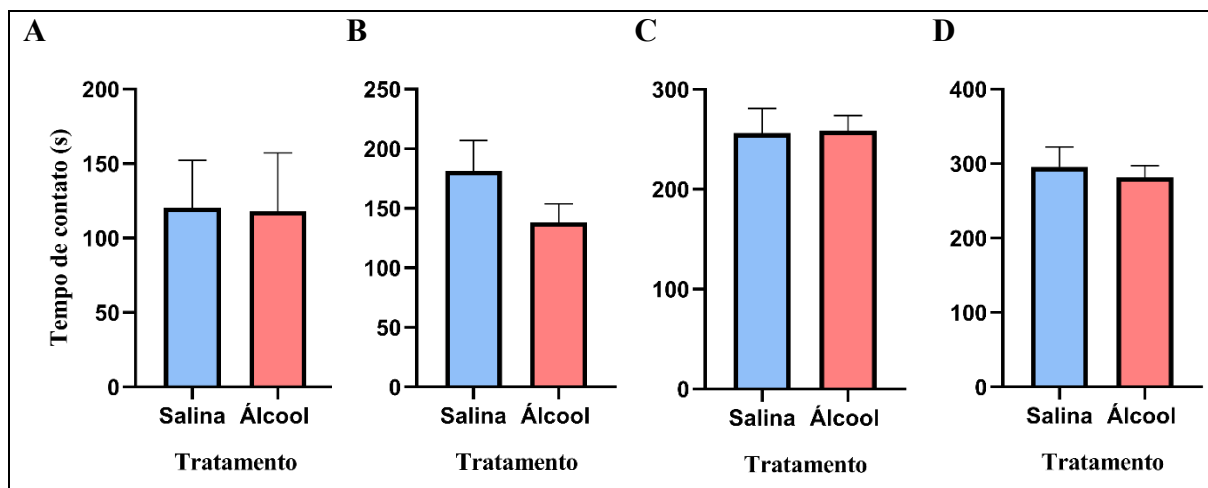


Figure 8: Parâmetros comportamentais avaliados durante o Teste de Interação Social na fase 2 (TIS 2), incluindo a duração do contato com o animal familiar (A), a duração do contato com o animal não familiar (B), o tempo de permanência no compartimento C (C) e o tempo de permanência no compartimento A (D). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Grupo controle (salina; $n = 9$) e grupo intoxicado (álcool; $n = 11$). As análises estatísticas foram realizadas por meio do teste t de Student para amostras independentes, considerando-se significativos valores de $p < 0,05$.

A Figura 9 apresenta o desempenho dos animais no teste de supressão da alimentação induzida pela novidade (NSF). A análise da latência para iniciar a alimentação não revelou diferenças significativas entre os grupos controle e intoxicado ($p = 0,8442$). Da mesma forma, o tempo total de alimentação e a quantidade de ração consumida também não diferiram entre os grupos avaliados ($p = 0,3459$ e $p > 0,9999$, respectivamente; teste t de Student).

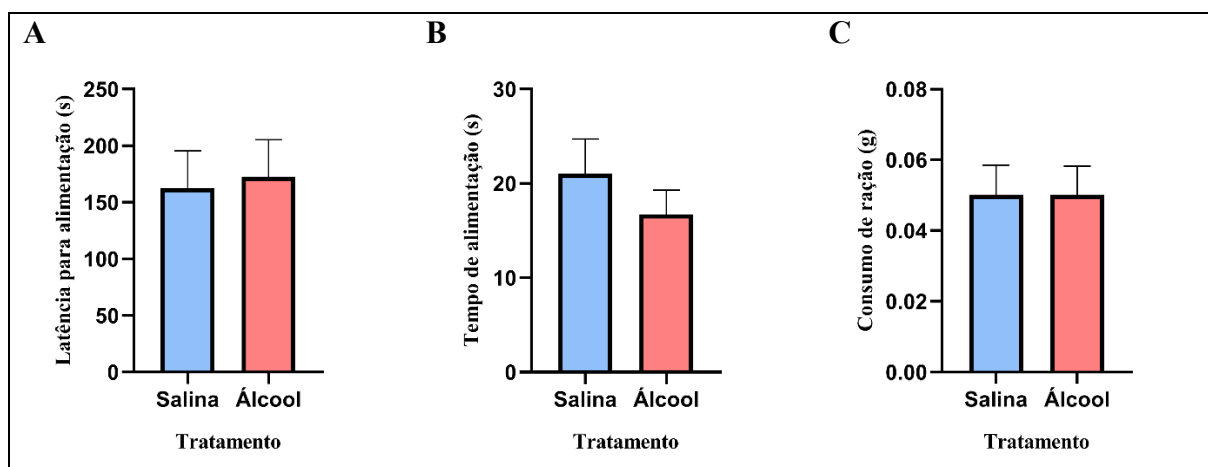


Figure 9: Parâmetros comportamentais avaliados no teste de supressão da alimentação induzida pela novidade (NSF), incluindo a latência para iniciar a alimentação (A), o tempo total de alimentação (B) e a quantidade de ração consumida (C). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Grupo controle (salina; $n = 9$) e grupo intoxicado (álcool; $n = 11$). As análises estatísticas foram realizadas por meio do teste t de Student para amostras independentes, considerando-se significativos valores de $p < 0,05$.

5.2. Análise comportamental considerando o sexo dos animais

Considerando o fator sexo, foram observadas as seguintes respostas comportamentais entre machos e fêmeas nos grupos controle e intoxicado. A Figura 10 mostra os parâmetros comportamentais avaliados no Teste de Interação Social (TIS 1). A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa na duração do contato com a gaiola vazia (Figura 10A) nem na duração do contato com a gaiola contendo o animal controle (Figura 10B), não sendo observados efeitos significativos dos fatores sexo, tratamento ou da interação sexo $\times$ tratamento para esses parâmetros ($p > 0,05$).

Por outro lado, foi observado efeito significativo do fator sexo no tempo de permanência nos compartimentos do aparato. O tempo no compartimento C (Figura 10C) apresentou efeito significativo desse fator ($p = 0,0031$), assim como o tempo no compartimento A (Figura 10D) ($p = 0,0119$). Entretanto, o fator tratamento e a interação sexo $\times$ tratamento não mostraram diferenças estatisticamente significativas para esses parâmetros ($p > 0,05$).

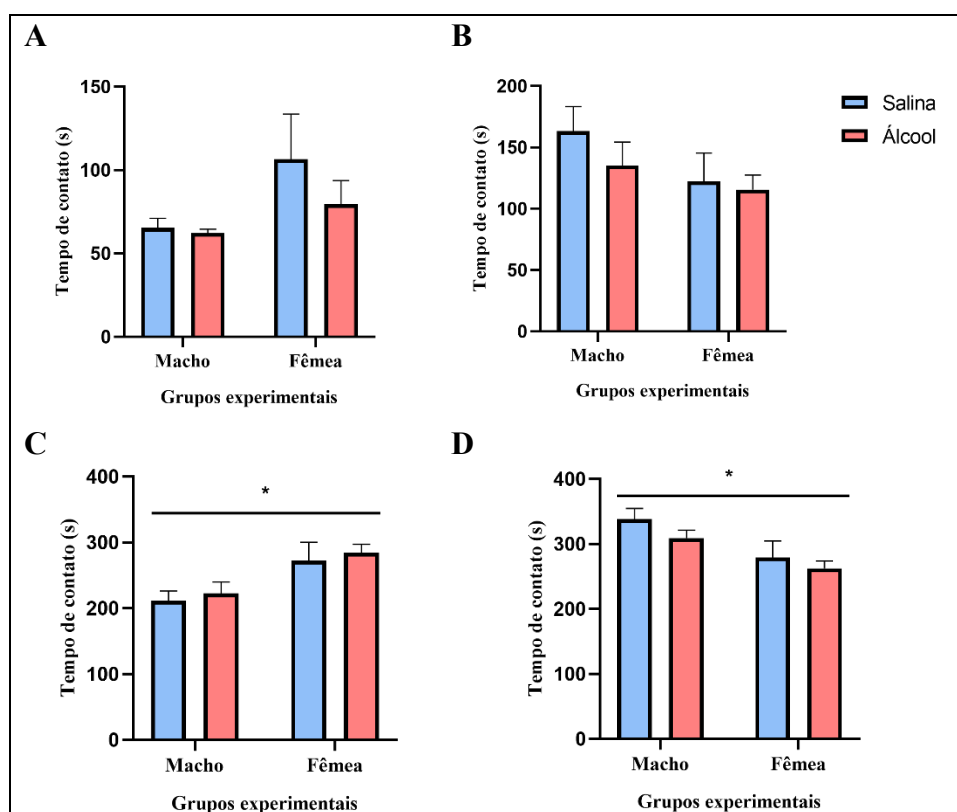


Figure 10: Parâmetros comportamentais avaliados no Teste de Interação Social na fase 1 (TIS 1), considerando o fator sexo, incluindo a duração do contato com a gaiola vazia (A), a duração do contato com a gaiola contendo o animal controle (B), o tempo de permanência no compartimento C (C) e o tempo de permanência no compartimento A (D). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) para os grupos controle (salina) e intoxicado (álcool), considerando machos e fêmeas. As análises estatísticas foram realizadas por modelo de efeitos mistos (REML), considerando os fatores sexo e tratamento. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

A Figura 11 mostra os parâmetros comportamentais avaliados no Teste de Interação Social na fase 2 (TIS 2). A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa na duração do contato com o animal familiar (Figura 11A), não sendo observados efeitos significativos dos fatores sexo, tratamento ou da interação sexo $\times$ tratamento para esse parâmetro ($p > 0,05$). Em contrapartida, foi observada diferença significativa na duração do contato com o animal não familiar (Figura 11B), evidenciada por uma interação significativa entre os fatores sexo e tratamento ($p = 0,0017$). A análise post hoc de Sidak revelou diferença significativa entre os grupos apenas nos machos ($p = 0,0483$), com redução da duração de contato no grupo álcool em comparação ao grupo salina, enquanto não foram observadas diferenças significativas nas fêmeas ($p > 0,05$).

Para os parâmetros relacionados ao tempo de permanência nos compartimentos do aparato, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no tempo de permanência no compartimento C e A (Figura 11C e 11D, respectivamente), não sendo identificadas diferenças significativas entre os grupos avaliados ($p > 0,05$).

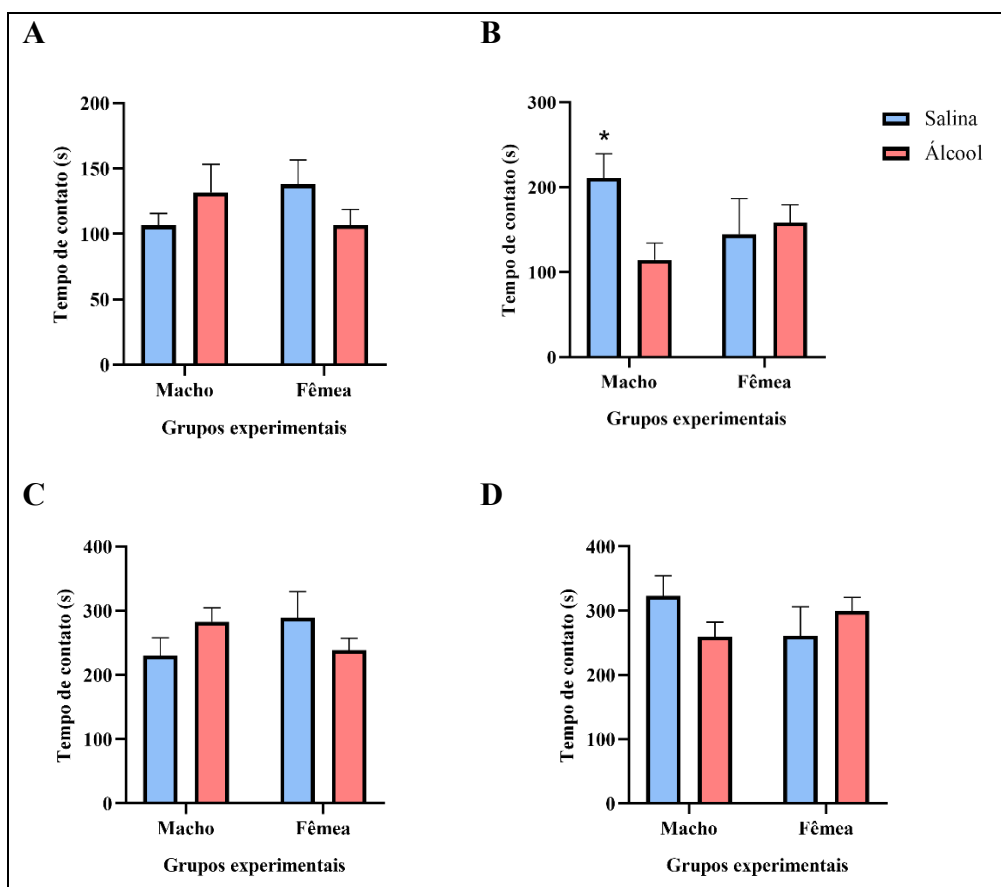


Figure 11: Parâmetros comportamentais avaliados no Teste de Interação Social na fase 2 (TIS 2), considerando o fator sexo, incluindo a duração do contato com o animal familiar (A), a duração do contato com o animal não familiar (B), o tempo de permanência no compartimento C (C) e o tempo de permanência no compartimento A (D). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) para os grupos controle (salina) e

intoxicado (álcool), considerando machos e fêmeas. As análises estatísticas foram realizadas por modelo de efeitos mistos (REML), considerando os fatores sexo e tratamento. Diferenças significativas foram identificadas por análise post hoc de Sidak quando apropriado. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

A Figura 12 mostra os parâmetros comportamentais avaliados no teste de NSF. A análise estatística demonstrou que não houve diferenças estatisticamente significativas na latência para iniciar a alimentação (Figura 12A), no tempo total de alimentação (Figura 12B) ou na quantidade de ração consumida (Figura 12C), não sendo observados efeitos significativos dos fatores sexo, tratamento ou da interação sexo $\times$ tratamento para esses parâmetros ($p > 0,05$).

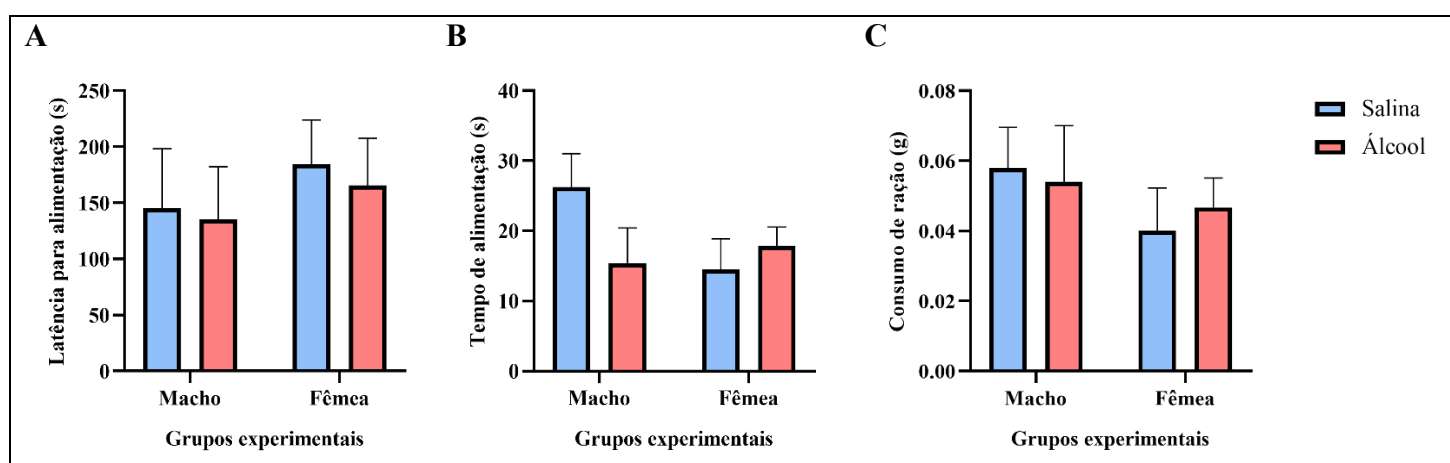


Figure 12: Parâmetros comportamentais avaliados no teste de NSF, considerando o fator sexo, incluindo a latência para iniciar a alimentação (A), o tempo total de alimentação (B) e a quantidade de ração consumida (C). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM) para os grupos controle (salina) e intoxicado (álcool), considerando machos e fêmeas. As análises estatísticas foram realizadas por modelo de efeitos mistos (REML), considerando os fatores sexo e tratamento. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

6. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que a intoxicação alcoólica durante a adolescência, nas condições experimentais empregadas, não foi suficiente para produzir um fenótipo amplo de ansiedade na vida adulta quando os animais foram analisados de forma agrupada, independentemente do sexo. De modo geral, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e intoxicado nos parâmetros avaliados TIS 1, no TIS 2 e no NSF, sugerindo que a exposição repetida ao etanol durante a adolescência não desencadeou, de forma global, alterações robustas de comportamento do tipo-ansiedade detectáveis por esses modelos comportamentais. Esse achado deve ser interpretado com cautela, pois não necessariamente indica ausência de efeito do etanol sobre circuitos relacionados à ansiedade, mas pode refletir que, no presente delineamento, tais alterações foram sutis, domínio-específicas ou dependentes do sexo.

Essa interpretação é particularmente relevante considerando a literatura que reconhece a adolescência como uma janela crítica de vulnerabilidade aos efeitos do álcool. Como discutido na introdução deste trabalho, a exposição ao etanol durante esse período pode promover alterações persistentes em circuitos neurais relacionados à regulação emocional, recompensa e controle comportamental, envolvendo estruturas como córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo (Spear, 2018; Crews, Vetreno; Broadwater, 2016). Além disso, o consumo precoce de álcool tem sido associado a maior vulnerabilidade a transtornos psiquiátricos na vida adulta, incluindo alterações emocionais relacionadas à ansiedade (Ehlers et al., 2013; Paus; Keshavan; Giedd, 2008). No entanto, os dados obtidos aqui sugerem que essa relação não se manifestou como um aumento inespecífico de ansiedade em todos os testes aplicados, mas sim como alterações comportamentais mais discretas e seletivas.

No TIS 1, a ausência de diferenças entre os grupos na duração do contato com a gaiola vazia e com o animal controle sugere que a intoxicação alcoólica na adolescência não comprometeu, de forma evidente, a sociabilidade basal dos animais adultos. Por outro lado, observou-se efeito significativo do fator sexo no tempo de permanência nos compartimentos A e C, indicando que machos e fêmeas apresentaram padrões distintos de exploração espacial do aparato. Esse resultado é interessante porque sugere que parte da variabilidade comportamental observada nesse modelo não depende exclusivamente do tratamento, mas também de diferenças sexuais intrínsecas na forma de explorar ambientes e estímulos sociais. Considerando que a literatura epidemiológica aponta diferenças importantes entre os sexos tanto na prevalência de transtornos de ansiedade quanto no uso abusivo de álcool, esse achado reforça a importância de

analisar o sexo como variável biológica e não apenas como fator de controle experimental (Andrade et al., 2002; Smith; Randall, 2012).

Embora os efeitos observados no TIS 1 tenham se concentrado nos parâmetros de permanência nos compartimentos, e não na interação social direta, esse padrão não deve ser subestimado. Em modelos etológicos, o modo como o animal distribui seu tempo no aparato pode refletir diferenças na exploração, na avaliação de novidade e na organização da resposta comportamental frente a estímulos potencialmente relevantes. Assim, é possível que o TIS 1 tenha captado diferenças mais relacionadas ao padrão exploratório entre machos e fêmeas do que propriamente um comportamento ansioso clássico. Isso ajuda a explicar por que houve efeito de sexo no tempo gasto nos compartimentos, mas não na duração do contato com os estímulos sociais em si.

Os resultados do TIS 2 foram, possivelmente, os mais relevantes do ponto de vista biológico. Nesse teste, não houve diferença na duração do contato com o animal familiar, mas foi identificada interação significativa entre sexo e tratamento para a duração do contato com o animal não familiar, sendo o efeito localizado pelo post hoc de Sidak apenas nos machos, nos quais o grupo exposto ao álcool apresentou redução do tempo de contato com o animal não familiar em comparação ao grupo salina. Esse achado sugere que a exposição ao etanol durante a adolescência pode ter afetado de forma mais específica a resposta à novidade social, particularmente em machos. Tal resultado é importante porque a preferência por novidade social representa um componente mais refinado do comportamento social do que a simples sociabilidade basal, envolvendo não apenas motivação exploratória, mas também processamento de novidade, discriminação social e integração emocional.

Esse resultado permite uma interpretação particularmente interessante: mais do que induzir um estado ansioso generalizado, a intoxicação alcoólica na adolescência pode ter produzido uma alteração sutil na forma como os animais adultos, especialmente os machos, respondem a estímulos sociais novos. Em outras palavras, os efeitos do etanol podem ter sido mais evidentes em um componente específico da interação social do que em medidas globais de ansiedade. Essa leitura é coerente com a noção de que o álcool, ao atuar sobre múltiplos sistemas neuroquímicos, pode comprometer dimensões particulares do comportamento, incluindo processos ligados à interação social, à resposta à novidade e à regulação emocional, sem necessariamente gerar alteração detectável em todos os modelos comportamentais aplicados.

Além disso, esses achados são compatíveis com a ideia de que diferentes testes de ansiedade captam domínios distintos do comportamento, e que nem todos apresentam a mesma sensibilidade para detectar consequências de uma mesma manipulação experimental. Tal fato pode ser exemplificado pela conhecida dificuldade que o modelo mais utilizado de ansiedade, o labirinto em cruz elevado, exhibe em responder a manipulações das vias relacionadas ao neurotransmissor serotonina (Pinheiro et al., 2007).

A ausência de alterações significativas no NSF reforça essa interpretação. Esse teste envolve um conflito entre a motivação para se alimentar e a aversão gerada por um ambiente novo, sendo amplamente utilizado como indicador de comportamento do tipo-ansiedade. No presente estudo, não foram observadas diferenças entre os grupos na latência para iniciar a alimentação, no tempo total de alimentação ou na quantidade de ração consumida, tanto na análise global quanto quando considerado o fator sexo. Embora, visualmente tenha sido possível observar uma tendência de diferença entre machos e fêmeas no tempo total de alimentação, essa diferença não atingiu significância estatística, possivelmente em razão do baixo número amostral (n), o que pode reduzir o poder estatístico das análises. Isso sugere que a intoxicação alcoólica na adolescência não promoveu um aumento consistente da ansiedade em um contexto de novidade alimentar.

Quando analisados em conjunto, os resultados do NSF e dos TIS indicam que o protocolo utilizado não levou a um fenótipo ansioso generalizado, mas sim, possivelmente, a uma alteração mais específica na dimensão social da resposta à novidade. A obtenção de efeitos comportamentais mais sutis também é compatível com estudos prévios que investigaram comportamentos relacionados à ansiedade após exposição ao etanol, como o trabalho de Silva (2025), no qual foram observadas alterações significativas apenas em um dos parâmetros de ansiedade avaliados no Labirinto em Cruz Elevado. Nesse aparato, camundongos intoxicados com etanol, sob protocolo parecido com o deste trabalho, apresentaram menor tempo de permanência nos braços abertos, sem alterações no outro parâmetro, o número de entradas nos braços abertos do labirinto. Além disso, não foram detectadas diferenças significativas em outro modelo animal de ansiedade testado, o teste de Transição Claro-Escuro.

Esse padrão de resultados também pode refletir diferenças na sensibilidade dos testes empregados. O TIS, especialmente na segunda fase, depende fortemente de processamento social, memória social e motivação para explorar um estímulo social novo, enquanto o NSF avalia um conflito motivacional distinto, relacionado ao comportamento alimentar em ambiente aversivo. Assim, é plausível que alterações induzidas pelo etanol durante a adolescência sejam

mais facilmente detectadas em tarefas que recrutem circuitos neurais ligados à sociabilidade e à novidade social do que em tarefas baseadas em conflito alimentar. Tal hipótese é compatível com a complexidade dos efeitos do álcool sobre o SNC, uma vez que o etanol modula diferentes sistemas de neurotransmissão e pode impactar circuitos de maneira não uniforme, dependendo da natureza do comportamento avaliado (Koob e Volkow, 2016; Basavarajappa, 2019).

Ainda nessa perspectiva, a relevância dos achados observados neste estudo também pode ser compreendida quando considerados os padrões descritos em estudos experimentais e clínicos sobre os efeitos do consumo precoce de álcool. Evidências da literatura indicam que a exposição ao etanol durante a adolescência nem sempre resulta em alterações comportamentais amplas ou imediatamente detectáveis, mas pode estar associada a mudanças mais sutis em processos emocionais e sociais, que se manifestam de forma dependente do contexto comportamental avaliado e do sexo biológico (Squeglia et al., 2015; Lees et al., 2020). Dessa maneira, a comparação entre os grupos controle e intoxicado neste modelo experimental permite inferir que, embora não tenham sido observadas alterações generalizadas de ansiedade, a exposição ao etanol durante a adolescência pode produzir modificações comportamentais discretas, mas biologicamente relevantes, alinhadas ao padrão observado em estudos clínicos e experimentais que descrevem impactos seletivos do álcool sobre o funcionamento emocional e social em fases posteriores do desenvolvimento (Silveri et al., 2012; Spear, 2018).

Do ponto de vista neurobiológico, ainda que o presente estudo tenha sido centrado em desfechos comportamentais, os achados permitem levantar hipóteses relevantes. Como discutido na introdução, a exposição ao etanol durante a adolescência pode alterar sistemas GABAérgico, glutamatérgico, dopaminérgico e endocanabinoide, todos fortemente implicados na regulação das emoções e do comportamento social. O sistema endocanabinoide, em especial, merece destaque, por modular a liberação de neurotransmissores em regiões como amígdala, hipocampo, córtex pré-frontal e substância cinzenta periaquedutal, áreas criticamente envolvidas no processamento de estímulos aversivos, sociais e emocionais (Basavarajappa, 2019; Lowe et al., 2021). Nesse sentido, é possível que os efeitos discretos observados no TIS 2, particularmente em machos, reflitam alterações neuroquímicas persistentes nesses circuitos, ainda não evidenciadas diretamente neste trabalho, mas plausíveis considerando o modelo experimental empregado.

Outro aspecto importante diz respeito ao papel do sexo biológico. A presença de efeitos de sexo no TIS 1 e a interação sexo $\times$ tratamento no TIS 2 sugerem que machos e fêmeas não responderam de maneira idêntica à exposição precoce ao etanol. Isso é particularmente

relevante porque reforça a necessidade de incorporar o sexo como variável central em estudos neurocomportamentais, especialmente naqueles voltados à adolescência. Diferenças sexuais em circuitos de estresse, recompensa, sociabilidade e regulação hormonal podem influenciar tanto a resposta ao álcool quanto a manifestação de comportamentos relacionados à ansiedade. No presente trabalho, o efeito mais claro do tratamento emergiu justamente em machos, no parâmetro de contato com o animal não familiar, o que sugere maior sensibilidade desse sexo para esse domínio comportamental específico sob as condições experimentais utilizadas.

Algumas limitações do estudo devem ser consideradas. Primeiramente, o número final de animais foi reduzido em decorrência de perdas ao longo do protocolo experimental, o que pode ter diminuído o poder estatístico para detectar efeitos mais discretos. Além disso, embora os testes empregados sejam modelos etológicos amplamente utilizados, é possível que outras abordagens comportamentais complementares, ou tempos diferentes de avaliação após a exposição alcoólica, revelassem alterações não captadas no presente delineamento. Também deve ser considerado que a interpretação dos parâmetros de permanência nos compartimentos do TIS nem sempre é simples, pois esses índices podem refletir não apenas ansiedade, mas também exploração, preferência espacial e dinâmica de interação com o aparato.

Ainda assim, o estudo apresenta pontos fortes importantes. O protocolo foi estruturado de modo a garantir a exposição repetida ao etanol durante a adolescência, uma fase reconhecidamente vulnerável do desenvolvimento, e a avaliação comportamental foi realizada na vida adulta, permitindo investigar consequências tardias dessa exposição. Além disso, a inclusão de machos e fêmeas fortalece a relevância biológica dos achados e amplia a interpretação dos resultados. O fato de os efeitos mais consistentes terem emergido na análise estratificada por sexo demonstra, inclusive, que essa escolha metodológica foi acertada.

Como perspectiva futura, é importante destacar que o presente trabalho representa uma etapa inicial de uma investigação mais ampla, voltada à compreensão dos efeitos neurobiológicos da exposição ao álcool durante a adolescência. Após a realização dos testes comportamentais, no mesmo dia, os encéfalos dos animais foram coletados após eutanásia sob anestesia com isoflurano a 4% por via inalatória, seguida de deslocamento cervical, decapitação e rápida criopreservação em nitrogênio líquido, sendo posteriormente mantidos em gelo seco e armazenados em freezer a -80 °C.

A partir desse material biológico, estudos subsequentes permitirão a dissecação, em criostato, de regiões do sistema nervoso central particularmente relevantes para os achados comportamentais observados, como amígdala, hipocampo e substância cinzenta periaquedutal,

com objetivo de investigar possíveis alterações no sistema endocanabinoide. Nesse contexto, a análise da expressão gênica de FAAH e MAGL, bem como dos receptores canabinoides CB1 e CB2, após preparação do homogenato das áreas encefálicas e utilização de estratégia de pré-amplificação multiplex previamente descrita por Liu et al. (2014), poderá contribuir para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes às alterações comportamentais identificadas neste trabalho. Além disso, estudos futuros serão realizados envolvendo um incremento no número de animais, explorando a diferença entre machos e fêmeas, uma vez que houve uma interessante diferença na resposta e, nesse estudo, quando separamos por sexo o “N” experimental reduziu à metade, fato que pode ter impactado na observação de resultados além do observado estatisticamente.

Em síntese, os resultados deste estudo indicam que a intoxicação alcoólica durante a adolescência, no protocolo empregado, não induziu alterações generalizadas de comportamento do tipo-ansiedade na vida adulta. Entretanto, a análise estratificada por sexo revelou achados relevantes, com efeito do sexo sobre parâmetros de exploração espacial no TIS 1 e, principalmente, com redução da interação com o animal não familiar em machos expostos ao álcool no TIS 2. Em conjunto, esses dados sugerem que a exposição precoce ao etanol pode produzir consequências comportamentais mais sutis e específicas do que um fenótipo ansioso global, afetando de modo particular a resposta à novidade social e reforçando a importância de considerar o sexo biológico e os mecanismos neuroquímicos associados na interpretação desses efeitos.

7. CONCLUSÃO

Os achados deste trabalho demonstram que a intoxicação alcoólica na adolescência não induziu alterações amplas de comportamento do tipo-ansiedade na vida adulta, mas produziu mudanças comportamentais específicas, particularmente na interação social e moduladas pelo sexo dos animais. Esses resultados reforçam a importância da adolescência como período crítico de vulnerabilidade aos efeitos do álcool e demonstram diferenças na resposta entre machos e fêmeas. Tais resultados sustentam a necessidade de estudos futuros para compreender melhor os mecanismos neurobiológicos associados.

8. REFERÊNCIAS

AIRAGNES, G. et al. Alcohol withdrawal syndrome management: Is there anything new? **La Revue de medecine interne**, v. 40, n. 6, p. 373–379, 2019. DOI: 10.1016/j.revmed.2019.02.001.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5**. 5. ed. Arlington, TX: American Psychiatric Association Publishing, 2013. DOI: 10.1176/appi.books.9780890425596.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ANDRADE, A. G. D.; ANTHONY, J. C.; SILVEIRA, C. M. **Álcool e suas consequências: uma abordagem multiconceitual**. Barueri (SP): Minha Editora, 2009. ISBN: 9788598416786.

ANDRADE, Arthur Guerra de et al. (org.). **Álcool e a saúde dos brasileiros: panorama 2025**. 1. ed. São Paulo: CISA – Centro de Informações sobre Saúde e Álcool, 2025. 121 p.

ANDRADE, Laura *et al.* Prevalence of ICD-10 mental disorders in a catchment area in the city of São Paulo, Brazil. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 37, n. 7, p. 316–325, 2002. DOI: 10.1007/s00127-002-0551-x.

ANKER, Justin J.; KUSHNER, Matt G. Co-occurring alcohol use disorder and anxiety: Bridging psychiatric, psychological, and neurobiological perspectives. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 40, n. 1, 2019. DOI: 10.35946/arcv.v40.1.03.

BASAVARAJAPPA, Balapal S. Endocannabinoid system and alcohol abuse disorders. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 1162, p. 89–127, 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-21737-2_6.

BATESON, M.; BRILOT, B.; NETTLE, D. Anxiety: an evolutionary approach. **Canadian journal of psychiatry. Revue canadienne de psychiatrie**, v. 56, n. 12, p. 707–715, 2011. DOI: 10.1177/070674371105601202.

BASTOS, F. I. P. M., Vasconcellos, M. T. L. d., De Boni, R. B., Reis, N. B. d., & Coutinho, C. F. d. S. (2017). **III Levantamento Nacional sobre o uso de drogas pela população brasileira**. In I. d. C. e. I. C. e. T. e. S. Fundação Oswaldo Cruz (Ed.), (pp. 528). Rio de Janeiro: ICICT/FIOCRUZ.

BEDSE, Gaurav et al. Endocannabinoid signaling in the central amygdala and bed nucleus of the stria terminalis: Implications for the pathophysiology and treatment of alcohol use disorder. **Alcoholism, clinical and experimental research**, v. 43, n. 10, p. 2014–2027, 2019. DOI: 10.1111/acer.14159.

BENTO, B. R. N. T. Impacto dos PEC's na reabilitação de alcoólicos crônicos. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2015.

BLANCHARD, Robert J. et al. Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. **Behavioural brain research**, v. 58, n. 1, p. 155-165, 1993. DOI: 10.1016/0166-4328(93)90100-5.

BUCKNER, Julia D. et al. Context-specific drinking and social anxiety: The roles of anticipatory anxiety and post-event processing. **Addictive Behaviors**, v. 102, n. 106184, p. 106184, 2020. DOI: 10.1016/j.addbeh.2019.106184.

CAMPOS, Alline C. et al. Animal models of anxiety disorders and stress. **Revista brasileira de psiquiatria**, v. 35, p. S101-S111, 2013. DOI: 10.1590/1516-4446-2013-1139.

CASTILLO, Ana Regina G. L. et al. Transtornos de ansiedade. **Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)**, v. 22, n. suppl 2, p. 20–23, 2000. DOI: 10.1590/S1516-44462000000600006.

CEDERBAUM, Arthur I. Alcohol metabolism. **Clinics in Liver Disease**, v. 16, n. 4, p. 667–685, 2012. DOI: 10.1016/j.cld.2012.08.002.

COSTA, C. O. DA et al. Prevalência de ansiedade e fatores associados em adultos. **Jornal brasileiro de psiquiatria**, v. 68, n. 2, p. 92–100, 2019. DOI: 10.1590/0047-2085000000232.

COSTARDI, João Victor Vezali et al. A review on alcohol: from the central action mechanism to chemical dependency. **Revista da Associação Médica Brasileira** (1992), v. 61, n. 4, p. 381–387, 2015. DOI: 10.1590/1806-9282.61.04.381.

CRASKE, Michelle G. et al. Anxiety disorders. **Nature Reviews. Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 17024, 2017. DOI: 10.1038/nrdp.2017.24.

CREWS, Fulton T. et al. Adolescent alcohol exposure persistently impacts adult neurobiology and behavior. **Pharmacological Reviews**, v. 68, n. 4, p. 1074–1109, 2016. DOI: 10.1124/pr.115.012138.

CRYAN, John F.; SWEENEY, Fabian F. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery: Age of anxiety. **British Journal of Pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1129–1161, 2011. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01362.x.

CUI, Changhai; KOOB, George F. Titrating tipsy targets: The neurobiology of low-dose alcohol. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 38, n. 6, p. 556–568, 2017. DOI: 10.1016/j.tips.2017.03.002.

CZÉH, Boldizsár et al. Animal models of major depression and their clinical implications. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 64, p. 293–310, 2016. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2015.04.004.

DAVIS, Christal N. et al. Effects of alcohol sensitivity on alcohol-induced blackouts and passing out: An examination of the alcohol sensitivity questionnaire among underage

drinkers. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 45, n. 5, p. 1149–1160, 2021. DOI: 10.1111/acer.14607.

EHLERS, C. L. et al. Periadolescent ethanol vapor exposure persistently reduces measures of hippocampal neurogenesis that are associated with behavioral outcomes in adulthood. **Neuroscience**, v. 244, p. 1–15, 2013. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.03.058.

FREITAS, M. G. DE; STOPA, S. R.; SILVA, E. N. DA. Consumption of alcoholic beverages in Brazil: estimation of prevalence ratios - 2013 and 2019. **Revista de saúde pública**, v. 57, p. 17, 2023. DOI: 10.11606/s1518-8787.2023057004380.

GILPIN, Nicholas W.; KOOB, George F. Neurobiology of alcohol dependence: focus on motivational mechanisms. **Alcohol Research & Health**, v. 31, n. 3, p. 185–195, 2008. PMCID: PMC2770186.

GONÇALVES, Daniel Maffasioli; KAPCZINSKI, Flavio. Prevalência de transtornos mentais em indivíduos de uma unidade de referência para Programa Saúde da Família em Santa Cruz do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cadernos de saúde pública**, v. 24, n. 9, p. 2043–2053, 2008. DOI: 10.1590/S0102-311X2008000900010.

HOFFMAN, Kurt Leroy. Modeling disorders of fear and anxiety in animals. **Modeling Neuropsychiatric Disorders in Laboratory Animals**. [S.l.]: Elsevier, 2016. p. 87–160. DOI: 10.1016/B978-0-08-100099-1.00003-0.

JAVAID, Syed Fahad et al. Epidemiology of anxiety disorders: global burden and sociodemographic associations. **Middle East Current Psychiatry**, v. 30, n. 1, 2023. DOI: 10.1186/s43045-023-00315-3.

JONES, A. W. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of alcohol. Apresentação na reunião da California **Association of Toxicologists**, Santa Rosa, California, 1-2 ago. 2003. Disponível em: [StudyRes](#). Acesso em: 28 jun. 2026.

KLEIN, Marianne O. et al. Dopamine: Functions, signaling, and association with neurological diseases. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 39, n. 1, p. 31–59, 2019. DOI: 10.1007/s10571-018-0632-3.

KOOB, George F.; VOLKOW, Nora D. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. **The Lancet. Psychiatry**, v. 3, n. 8, p. 760–773, 2016. DOI: 10.1016/S2215-0366(16)00104-8.

LAVIOLA, Giovanni *et al.* Risk-taking behavior in adolescent mice: psychobiological determinants and early epigenetic influence. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 1–2, p. 19–31, 2003. DOI: 10.1016/S0149-7634(03)00006-X

LEES, Briana *et al.* Effect of alcohol use on the adolescent brain and behavior. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 192, n. 172906, p. 172906, 2020. DOI: 10.1016/j.pbb.2020.172906.

LENT, Roberto. Cem bilhões de neurônios?: conceitos fundamentais de neurociência. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. ISBN: 978-85-388-0102-3.

LIU, Qing-Rong et al. Detection of molecular alterations in methamphetamine-activated Fos-expressing neurons from a single rat dorsal striatum using fluorescence-activated cell sorting (FACS). **Journal of Neurochemistry**, v. 128, n. 1, p. 173–185, 2014. DOI: 10.1111/jnc.12381.

LOWE, H. et al. The Endocannabinoid System: A potential target for the treatment of various diseases. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 17, p. 9472, 2021. DOI: 10.3390/ijms22179472.

MACHADO, S et al. Eletricidade para curar o cérebro. **Neurociência: Mente e cérebro**, p. 61-65, 2012.

NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM (NIAAA). Drinking Levels Defined. Bethesda: NIH, 2021. Disponível em:

<https://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/overview-alcohol-consumption/moderate-binge-drinking>. Acesso em: 16 abr. 2026.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global status report on alcohol and health and treatment of substance use disorders. Geneva: World Health Organization, 25 jun. 2024.

O'TUATHAIGH, C. M. P. et al. Phenotypic characterization of spatial recognition and social behaviour in mice with knockout of the schizophrenia risk gene neuregulin 1. **Neuroscience**, v. 147, n. 1, p. 18–27, 2007. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.03.051.

PAUS, Tomás; KESHAVAN, Matcheri; GIEDD, Jay N. Why do many psychiatric disorders emerge during adolescence? **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 9, n. 12, p. 947–957, 2008. DOI: 10.1038/nrn2513.

PENTKOWSKI, Nathan S. *et al.* Anxiety and Alzheimer's disease: Behavioral analysis and neural basis in rodent models of Alzheimer's-related neuropathology. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 127, p. 647–658, 2021. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.05.005.

PINHEIRO, Simone H. *et al.* Elevated mazes as animal models of anxiety: effects of serotonergic agents. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 79, n. 1, p. 71–85, 2007. DOI: 10.1590/S0001-37652007000100010

RASSOOL, G. H.; WINNINGTON, J. Adolescents and alcohol misuse. **Nursing standard** (Royal College of Nursing (Great Britain): 1987), v. 17, n. 30, p. 46–52; quiz 53–5, 2003. DOI: 10.7748/ns2003.04.17.30.46.c3373.

RAULO, A.; DANTZER, B. Associations between glucocorticoids and sociality across a continuum of vertebrate social behavior. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 15, p. 7697–7716, 2018. DOI: 10.1002/ece3.4059.

RIBEIRO, Wagner Silva *et al.* The impact of epidemic violence on the prevalence of psychiatric disorders in Sao Paulo and Rio de Janeiro, Brazil. **PloS One**, v. 8, n. 5, p. e63545, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0063545.

ROSSO, M. et al. Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 143, n. 104928, p. 104928, 2022. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2022.104928.

SAWYER, Susan M. et al. The age of adolescence. **The Lancet. Child & Adolescent Health**, v. 2, n. 3, p. 223–228, 2018. DOI: 10.1016/s2352-4642(18)30022-1.

SILVA, Ana Clara Caetano. **Avaliação dos efeitos da intoxicação alcoólica nas respostas neurocomportamentais do tipo ansiosas em camundongos adolescentes**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Uberlândia, 2025.

SILVERI, Marisa M. Adolescent brain development and underage drinking in the United States: identifying risks of alcohol use in college populations. **Harvard Review of Psychiatry**, v. 20, n. 4, p. 189–200, 2012. DOI: 10.3109/10673229.2012.714642.

SMITH, J. P.; RANDALL, C. L. Anxiety and alcohol use disorders: Comorbidity and treatment considerations. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 34, n. 4, p. 414–431, 2012. DOI: 10.35946/arcr.v34.4.06.

SPANAGEL, Rainer. Cannabinoids and the endocannabinoid system in reward processing and addiction: from mechanisms to interventions. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 22, n. 3, p. 241–250, 2020. DOI: 10.31887/dcns.2020.22.3/rspanagel.

SPEAR, L. P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 4, p. 417–463, 2000. DOI: 10.1016/s0149-7634(00)00014-2.

SPEAR, L. Modeling adolescent development and alcohol use in animals. **Alcohol Research & Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism**, v. 24, n. 2, p. 115–123, 2000. PMCID: PMC6713014

SPEAR, Linda P. Effects of adolescent alcohol consumption on the brain and behaviour. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 19, p. 197–214, 2018. DOI: 10.1038/nrn.2018.10.

SQUEGLIA, Lindsay M. *et al.* Brain development in heavy-drinking adolescents. **The American Journal of Psychiatry**, v. 172, n. 6, p. 531–542, 2015. DOI: 10.3109/10673229.2012.714642.

SUBSTANCE ABUSE AND MENTAL HEALTH SERVICES ADMINISTRATION. **Results from the 2006 National Survey on Drug Use and Health: national findings**. Rockville, MD: Office of Applied Studies, 2007. (NSDUH Series H-32; DHHS Publication n. SMA 07-4293). Disponível em: <https://files.eric.ed.gov/fulltext/ED498206.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2026.

VÁRKONYI, Dorottya *et al.* Investigation of anxiety- and depressive-like symptoms in 4- and 8-month-old male triple transgenic mouse models of Alzheimer’s disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 18, p. 10816, 2022. DOI: 10.3390/ijms231810816.

VARLINSKAYA, Elena I.; SPEAR, Linda P. Changes in sensitivity to ethanol-induced social facilitation and social inhibition from early to late adolescence. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1021, n. 1, p. 459–461, 2004. DOI: 10.1196/annals.1308.064.

VÁZQUEZ-LEÓN, Priscila *et al.* The periaqueductal gray and its extended participation in drug addiction phenomena. **Neuroscience bulletin**, v. 37, n. 10, p. 1493–1509, 2021. DOI: 10.1007/s12264-021-00756-y.

VENGELIENE, V. *et al.* Neuropharmacology of alcohol addiction: Neuropharmacology of alcoholism. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 2, p. 299–315, 2008. DOI: 10.1038/bjp.2008.30.

VENGELIENE, Valentina; BILBAO, Ainhua; SPANAGEL, Rainer. The alcohol deprivation effect model for studying relapse behavior: a comparison between rats and mice. **Alcohol (Fayetteville, N.Y.)**, v. 48, n. 3, p. 313–320, 2014. DOI: 10.1016/j.alcohol.2014.03.002.

VIJAYAKUMAR, Nandita et al. Puberty and the human brain: Insights into adolescent development. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 92, p. 417–436, 2018. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2018.06.004.

VOGEL-SPROTT, M. et al. Alcohol and behavioral control: Cognitive and Neural mechanisms. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 25, n. 1, p. 117–121, 2001. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2001.tb02135.x.

VORE, Andrew S. *et al.* Adolescent ethanol exposure leads to stimulus-specific changes in cytokine reactivity and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis sensitivity in adulthood. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 11, p. 78, 2017. DOI: 10.3389/fnbeh.2017.00078.

ANEXO A – Certificado de Comissão de Ética na Utilização de Animais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Reitoria
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais
Rua Ceará, s/n, Bloco 2D, Sala 02 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 3225-8658 - www.comissoes.propp.ufu.br/ceua - ceua@propp.ufu.br



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado Avaliação dos Efeitos da Intoxicação Alcoólica nas respostas Neurocomportamentais Relacionadas à Ansiedade e Depressão em Camundongos, protocolo nº **23117.030582/2025-11**, sob a responsabilidade de Tarciso Tadeu Miguel – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião **22 de Agosto de 2025**.

(We certify that the project entitled Avaliação dos Efeitos da Intoxicação Alcoólica nas respostas Neurocomportamentais Relacionadas à Ansiedade e Depressão em Camundongos, protocol **23117.030582/2025-11**, under the responsibility of Tarciso Tadeu Miguel - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was **approved** for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of **August 22th, 2025**).

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência do Projeto	Início: 15/09/2025 Término: 14/09/2027
Espécie/Linhagem/Grupos Taxonômicos	Camundongos C57BL/6J.
Número de animais	96
Peso/Idade	10-12 gramas / 21 dias
Sexo	Macho e Fêmea
Origem/Local	ReBiR - UFU
Local onde serão mantidos os animais:	ReBiR - UFU

Uberlândia, 25 de agosto de 2025.

LUIZ FERNANDO MOREIRA IZIDORO
Coordenador da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Portaria R Nº 6794/2024



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Fernando Moreira Izidoro, Presidente**, em 25/08/2025, às 09:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6618001** e o código CRC **41D76C77**.