

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA

Solange Bandiera

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE ÁLCOOL E FUMAÇA DE CIGARRO SOBRE  
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS EM RATOS**

Porto Alegre

2019

Solange Bandiera

**EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE ÁLCOOL E FUMAÇA DE CIGARRO SOBRE  
PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICOS EM RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica, do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de doutora em Farmacologia e Terapêutica.

Orientadora: Prof. Dra. Rosane Gomez

Porto Alegre

2019

### CIP - Catalogação na Publicação

Bandiera, Solange  
EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE ÁLCOOL E FUMAÇA DE  
CIGARRO SOBRE PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS E  
NEUROQUÍMICOS EM RATOS / Solange Bandiera. -- 2019.  
92 f.  
Orientador: Rosane Gomez.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas:  
Farmacologia e Terapêutica, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. álcool. 2. cigarro . 3. drogadição. 4.  
comportamento . I. Gomez, Rosane, orient. II. Título.

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutora em Farmacologia e Terapêutica, e aprovada em sua forma final, pelo orientador e pela banca examinadora do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica.

**Prof. Dra. Rosane Gomez**  
Orientadora

**BANCA EXAMINADORA:**

**Prof. Dra. Patrícia Pereira**  
UFRGS

**Prof. Dra. Márcia Giovenardi**  
UFCSPA

**Prof. Dra. Paula Eliete Rodrigues Bitencourt**  
UFSM

**Prof. Dra. Iraci Lucena da Silva Torres**  
Coordenadora do PPG Farmacologia e Terapêutica

*Dedico este trabalho ao  
meu noivo Otaviano que  
me apoiou muito durante  
essa caminhada.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela dádiva da vida, por me guiar e iluminar ao longo dessa caminhada.

Agradeço a minha orientadora Dra. Rosane Gomez, pela confiança depositada, pelo apoio incondicional e principalmente por todos os ensinamentos. Agradeço por ter, com todo o carinho e paciência, me ensinado a fazer pesquisa. Serei eternamente grata por tudo e posso dizer, com toda a certeza, que sem ela eu não teria conseguido.

Ao meu noivo, Otaviano Luis Talgatti, pelo amor, compreensão e apoio. Pelo seu incentivo, bom humor e por estar ao meu lado em todos os momentos. Obrigada por tudo.

Aos meus pais Benjamim e Inês Bandiera, meus exemplos, que me apoiaram e ensinaram a importância do trabalho árduo para se atingir o que se almeja. Gratidão por terem me ensinado os princípios e valores que levo sempre comigo.

Ao meu irmão Ivan Bandiera (*in memoriam*) que durante meu doutorado partiu para junto do Pai, mas estará sempre em meu coração. Sei que lá de cima ele zela por mim.

Ao grupo do Laboratório de Álcool e Tabaco (LAT), pela colaboração em todas as etapas desta pesquisa, e por todas as trocas de ideias e bons momentos compartilhados.

Aos laboratórios parceiros que auxiliaram em diversas etapas desse trabalho. Laboratório de Bioquímica, ao Laboratório da professora Lenir, e ao laboratório de Biologia molecular da UFCSPA.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Terapêutica pela oportunidade de aprender com excelentes professores e pesquisadores.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo apoio financeiro que viabilizou a execução deste trabalho.

Enfim, gratidão a todos que de maneira perceptível e imperceptível, acreditaram no meu crescimento e auxiliaram nesta caminhada.

## RESUMO

A dependência ao álcool e ao cigarro é um problema de saúde pública e essas drogas estão relacionados a milhares de mortes por ano. Tanto o álcool como a nicotina, uma substância neuroativa presente no cigarro, apresentam propriedade ansiolítica, possivelmente correlacionada com alterações nos sistemas gabaérgico e glutamatérgico. O objetivo geral, nesta tese, foi avaliar as alterações comportamentais e neuroquímicas associadas ao uso combinado dessas duas drogas de abuso. Inicialmente, foram avaliados os efeitos da associação de álcool e fumaça de cigarro sobre o comportamento no teste de campo aberto, em ratos cronicamente tratados com álcool (4 g/kg/dia) e/ou fumaça de 12 cigarro/dia, 1 hora após a administração do álcool e logo após a exposição à fumaça de 3 cigarros. Também foi verificado o volume encefálico e número de neurônios na região CA1 do hipocampo destes animais. Os resultados mostraram que o uso combinado aumentou o efeito psicoestimulante quando comparado ao uso isolado do cigarro. Além disso, o uso combinado produziu efeito ansiolítico adicional quando comparado com o álcool isolado, além de aumenta o comportamento de grooming. O uso combinado também preveniu a perda de neurônios no hipocampo e o aumento no volume cerebral identificado em ratos tratados apenas com álcool. Posteriormente estendemos a pesquisa para outros testes comportamentais (caixa de locomoção, labirinto em cruz elevado e caixa claro/escuro), utilizando o mesmo protocolo experimental, exceto que neste estudo os animais foram testados 3 horas após a administração do álcool e 1 hora após a fumaça do último cigarro do turno. Também foi avaliado os níveis de glutamato no líquido cefalorraquidiano e determinado a expressão do RNAm das subunidades  $\alpha 1$  e  $\alpha 4$ , do receptor GABAA, bem como as subunidades GluN2A e GluN2B do receptor NMDA do glutamato no hipocampo dos animais. Os resultados obtidos mostram efeito psicomotor persistente apenas pelo uso combinado de álcool e fumaça de cigarro, sendo esse comportamento diretamente correlacionado com as concentrações de glutamato no líquido cefalorraquidiano dos animais que faziam uso combinado. Além disso, álcool, cigarro ou seu uso combinado apresentaram um efeito ansiolítico observado pelo maior tempo de permanência dos ratos na área clara da caixa claro escuro. Contudo, uma hora de abstinência ao cigarro produziu efeito tipo-ansiógênico nos ratos expostos à fumaça do cigarro no labirinto em cruz elevado que foi revertido pelo uso combinado das drogas. Embora houve o aumento dos níveis de glutamato no líquido cefalorraquidiano, não foi encontrado diferenças significativas na

expressão das subunidades dos receptores do GABA e glutamato no hipocampo. Os resultados aqui apresentados sugerem que o uso associado de álcool e cigarro prolonga a sensação de prazer devido ao aumento persistente do neurotransmissor glutamato, possivelmente devido ao aumento da transmissão dopaminérgica. Os resultados obtidos nesta tese contribuem para a elucidação de algumas alterações decorrentes do uso combinado de álcool e cigarro. Portanto, tais resultados sugerem que os indivíduos usam as drogas associadas para prolongar os efeitos prazerosos ou reduzir efeitos adversos associados à abstinência de uma ou outra droga.

**Palavras-chave:** etanol, tabaco, drogadição, hipocampo, glutamato, GABA



## ABSTRACT

Alcohol and cigarette dependence is a public health problem since these drugs are related to thousands of deaths each year. Both alcohol and nicotine, a neuroactive substance present in the cigarette, have anxiolytic properties, possibly correlated with changes in the gabaergic and glutamatergic systems. The general objective in this thesis was to evaluate the behavioral and neurochemical changes associated with the combined use of these two drugs of abuse. Firstly, we investigated the effects of the association of alcohol and cigarette smoke on the behavior of rats chronically treated with alcohol (4 g/kg/day) and/or exposure to the smoke from 12 cigarettes/day in the open field test, 1 h from alcohol administration and immediately after the smoke from 3 cigarettes. We also verified changes in the encephalic volume and the numbers of neurons in the CA1 region of the hippocampus of rats. Results showed that the combined use increased the psychostimulant effect when compared to the isolated use of smoke cigarette. Moreover, the combined use produced an additional anxiolytic effect when compared to the alcohol alone and increased the grooming behavior. Combined use also counteracted the loss of neurons in the hippocampus and increased the brain volume found in rats treated with alcohol alone. Posteriorly, we extended the research to other behavioral tests (locomotor activity cage, elevated plus maze and light/dark box) following the same experimental protocol, except that rats were tested 3 h from the alcohol administration and 1 h from the last cigarette smoke exposure. We also evaluated the glutamate levels in the cerebrospinal fluid and the mRNA expression of the  $\alpha 1$  and  $\alpha 4$  subunits of the GABAA receptor, as well as the GluN2A and GluN2B subunits of the glutamate NMDA receptor in the hippocampus of rats. Results obtained in the second manuscript showed a persistent psychomotor effect only by the combined use of alcohol and cigarette smoke and this behavior was directly correlated with the glutamate levels in the cerebrospinal fluid of the animals. Moreover, alcohol, smoke cigarette, or their combined use showed an anxiolytic-effect in rats denoted by the longest permanence in the light area in the light/dark box. However, one hour of cigarette smoke abstinence increased the anxiogenic-like behaviors in the elevated plus maze, counteracted by the combined use. Although the increased levels of glutamate in cerebrospinal fluid, we did not find significant differences in the expression of GABA and glutamate receptor subunits in the hippocampus. The results presented here suggest that the combined use of alcohol and cigarettes prolongs the reward effect due to the persistent increase of the

glutamate neurotransmission, possibly due to the increase in dopaminergic transmission. The results obtained in this thesis contribute to the elucidation of some changes resulting from the combined use of alcohol and cigarette. Therefore, such results suggest that individuals use the associated drugs to prolong the pleasurable effects of either drug or to reduce the side effect by the abstinence from one or other drug.

**Keywords:** ethanol, tobacco, drug addiction, hippocampus, glutamate, GABA

## APRESENTAÇÃO

Os resultados desta tese de doutorado estão apresentados sob a forma de dois artigos científicos, o primeiro já publicado no periódico *Behavioural Pharmacology* em fevereiro de 2019, e o segundo a ser submetido ao periódico *Pharmacology Biochemistry and Behavior*.

O corpo desta tese está constituído por uma introdução geral, que apresenta as bases teóricas e justificativa deste trabalho, seguida pelos dois artigos citados acima, ambos na língua inglesa e uma discussão geral, que apresenta comentários sobre os resultados contidos nos artigos científicos. O item referências se refere apenas às referências da introdução da tese.

Cada artigo apresenta uma introdução específica, seguida de materiais e métodos, resultados, discussão e lista de referências do próprio artigo.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>6</b>
1.1 ÁLCOOL E CIGARRO .....	6
1.2 VIAS DA DEPENDÊNCIA ÀS DROGAS .....	7
1.3 GABA E GLUTAMATO NA DEPENDÊNCIA AO ÁLCOOL E A NICOTINA	
9	
1.4 ESTUDOS IN VIVO SOBRE ÁLCOOL E NICOTINA NO SISTEMA	
NERVOSO CENTRAL .....	12
1.5 JUSTIFICATIVA.....	13
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
<b>3. ARTIGO PUBLICADO.....</b>	<b>15</b>
<b>4. ARTIGO SUBMETIDO .....</b>	<b>43</b>
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>69</b>
<b>5. CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>70</b>
<b>6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>71</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXO A – TRABALHOS DESENVOLVIDOS DURANTE O DOUTORADO. 78</b>	
<b>ANEXO B – PARECER DE PROJETO DE PESQUISA ENCAMINHADO AO</b>	
<b>PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:</b>	
<b>FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA.....</b>	<b>87</b>
<b>ANEXO C – PARECER DE PROJETO DE PESQUISA ENCAMINHADO AO</b>	
<b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS .....</b>	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 ÁLCOOL E CIGARRO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), álcool e cigarro são as drogas lícitas mais consumidas no mundo. O uso abusivo de álcool é um dos fatores de risco de maior impacto para ocorrência de morbidade, mortalidade e incapacidades em todo o mundo. Seu uso está relacionado a 3,3 milhões de mortes anualmente, o equivalente a quase 5,3% de todas as mortes no mundo (WHO, 2018a, 2018b). Ainda nota-se que as faixas etárias mais jovens (20-49 anos) são as principais afetadas em relação a mortes associadas ao uso do álcool, traduzindo como uma maior perda de pessoas economicamente ativas (CISA, 2018).

A epidemia de tabaco é uma das maiores ameaças à saúde pública que o mundo já enfrentou, sendo responsável pela morte de mais de 7 milhões de pessoas por ano. Mais de 6 milhões dessas mortes são resultado do uso direto do tabaco, enquanto mais de 890 mil mortes são resultado de não-fumantes expostos ao fumo passivo (WHO, 2018b). Globalmente, 12% de todas as mortes de indivíduos maiores de 30 anos podem ser atribuídas ao cigarro, projetando-se uma morte a cada 6 segundos (WHO, 2018b). Em adultos, o tabaco provoca graves doenças cardiovasculares e respiratórias, incluindo doença coronariana e câncer de pulmão. Esses usuários que morrem prematuramente privam suas famílias de renda, aumentam o custo dos cuidados de saúde e dificultam o desenvolvimento econômico (José et al., 2017).

No Brasil, em 2016, o álcool foi associado a cerca de 70% dos índices de cirrose hepática, a 37% dos acidentes de trânsito e a 8,7% dos índices de câncer. Especificamente sobre os transtornos relacionados ao uso do álcool, estima-se que 4,2% (6,9% entre homens e 1,6% entre mulheres) dos brasileiros preenchem critérios para abuso ou dependência (Zaleski et al., 2017). As consequências do uso de álcool também oneram a sociedade, de forma direta e indireta, potencializando os custos em hospitais e outros recursos do sistema de saúde, sistema judiciário, previdenciário, perda de produtividade do trabalho, absenteísmo, desemprego, entre outros.

Dados do Ministério da Saúde apontam que no Brasil, cerca de 63% dos homens e 33% das mulheres adultas fumam cigarro, dentre estes, os com menores condições socioeconômicas e níveis educacionais fumam mais. Estimativas indicam que o tabagismo é responsável por aproximadamente 45% das mortes nos homens

com menos de 65 anos, e por mais de 20% de todos os óbitos por doença coronariana nos homens com idade maior que 65 anos e por 40% dos óbitos por doença coronariana em mulheres com mais de 65 anos de idade. Além disso, homens fumantes entre 45 e 54 anos de idade têm quase três vezes mais probabilidade de morrer de infarto do miocárdio do que os não-fumantes da mesma faixa etária (BRASIL, 2018).

Apesar desses dados, há poucos estudos avaliando as consequências do uso associado de álcool e cigarro, embora se saiba que mais de 90% dos indivíduos dependentes de álcool são fumantes (Meyerhoff et al., 2006). Além disso, alcoolistas pesados fumam mais cigarros por dia que indivíduos não alcoolistas e fumantes consomem duas vezes mais álcool que não fumantes (Dawson, 2000; DiFranza and Guerreria, 1990). Sugere-se que essa elevada frequência de associação seja consequência da facilidade de acesso e aquisição de ambas, uma vez que são drogas lícitas. No entanto, não se descarta que outros fatores estejam envolvidos como o aumento ou o prolongamento dos efeitos prazerosos das drogas quando usadas em associação (Narahashi et al., 2001). Outro fator seria a redução dos efeitos indesejados de uma ou outra droga, isto é, redução do efeito inibitório do álcool sobre o sistema nervoso central (SNC), ou redução do efeito estimulante induzido pela nicotina, substância psicoativa presente no cigarro (Proctor et al., 2011).

## 1.2 VIAS DA DEPENDÊNCIA ÀS DROGAS

O ciclo de dependência às drogas se caracteriza pela compulsão do uso de determinada droga, perda do controle na quantidade administrada e o surgimento do estado emocional negativo durante sua privação (por exemplo, disforia, ansiedade, irritabilidade), refletindo em síndrome de abstinência quando o acesso à droga é evitado (Koob and Volkow, 2016). Por exemplo, com relação ao abuso de álcool, os indivíduos são inicialmente motivados a beber principalmente por causa dos efeitos prazerosos, mas acabam sendo atraídos novamente pelo álcool para evitar os sentimentos afetivos negativos que emergem durante os períodos de abstinência (Ewin et al., 2019).

As drogas de abuso possuem diferentes mecanismos de ação que parecem convergir em uma mesma via neural de recompensa, afetando a função celular de modo diverso quando administradas de forma aguda ou cronicamente (Koob and Le Moal, 2001). A via de recompensa mais conhecida é a via dopaminérgica

mesolímbica. Essa via, que projeta neurônios dopaminérgicos da área tegmental ventral (VTA) até o núcleo accumbens (NAcc) e córtex pré-frontal (CPF) é um dos mais importantes substratos neurais para a geração de estímulos de recompensa provocados por drogas de abuso (Nestler, 2005). Cada droga, apesar de mecanismo de ação distinto, parece levar diretamente ou indiretamente ao aumento da transmissão dopaminérgica nesta via (Koob and Le Moal, 2001).

Outro componente envolvido na via da recompensa possui regiões com projeções glutamatérgicas e neurônios contendo receptores de glutamato, as quais fornecem uma base anatômica para a transmissão glutamatérgica na dependência (Gass and Olive, 2008). Projeções glutamatérgicas do córtex pré-frontal (CPF) para o NAc foram implicadas na iniciação e aprendizagem de comportamentos aditivos (Moussawi and Kalivas, 2010), que são posteriormente regulados por projeções dopaminérgicas da VTA (Deng et al., 2009). Essas vias glutamatérgicas, entre o CPF e a NAc, também são consideradas como tendo papel fundamental nos comportamentos aditivos, sendo importantes para restituir o comportamento de busca às drogas (Kalivas and Volkow, 2005). Projeções glutamatérgicas da amígdala (AMG) e hipocampo (HPC) para o CPF e NAc estabelecem e fornecem informações previamente aprendidas associadas com a experiência, influenciando ainda mais as respostas comportamentais complexas (Kalivas and Volkow, 2005). Curiosamente, também foi visto que o sistema glutamatérgico desempenha um papel crítico na dependência por exemplo, do álcool, incluindo a busca da droga e conseqüentemente, a recaída (Goodwani et al., 2017).

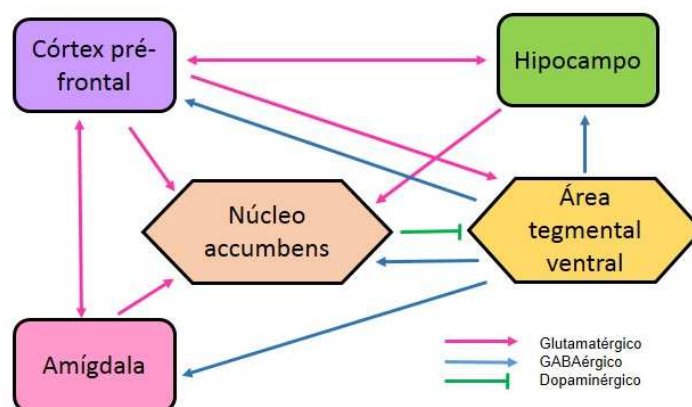


Figura 1 – Neurocircuito da recompensa na drogadição. Fonte: Adaptado de Goodwani et al., 2017.

O Álcool, por meio da ativação do receptor de GABA A, pode inibir terminais GABAérgicos na VTA e, portanto, desinibir os neurônios de dopamina na VTA. O álcool pode ainda inibir terminais glutamatérgicos que inervam neurônios no NAc (Nestler, 2005), ou pela liberação indireta de GABA. Acredita-se que o álcool facilite a liberação de peptídeos opioides na VTA, no núcleo accumbens e no núcleo central da amígdala, assim como facilita a liberação de dopamina no núcleo accumbens através de sua ação na VTA ou no núcleo accumbens, contribuindo para a dependência (Figura 2) (Koob and Volkow, 2016). Já a nicotina parece ativar diretamente os neurônios de dopamina na VTA através da estimulação dos receptores colinérgicos nicotínicos nesses neurônios e indiretamente através da estimulação de seus receptores nos terminais nervosos glutamatérgicos que inervam as células dopaminérgicas (Nestler, 2005) (Figura 2).

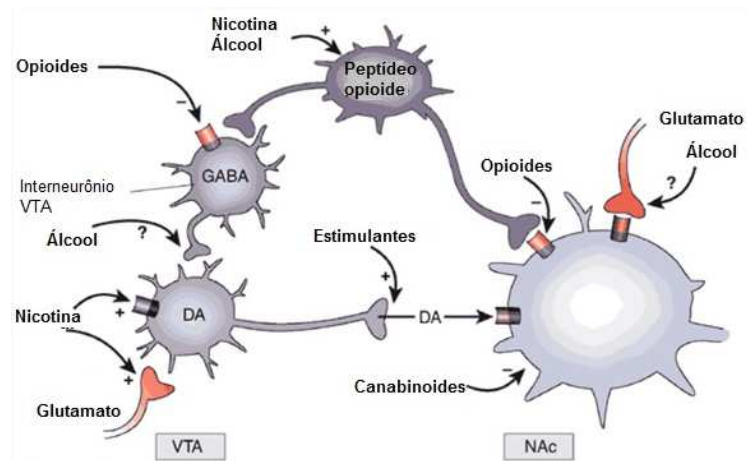


Figura 2 –Vias dopaminérgicas mesolímbica relacionadas com a drogadição. Fonte: Adaptado de Nestler, 2005.

### 1.3 GABA E GLUTAMATO NA DEPENDÊNCIA AO ÁLCOOL E A NICOTINA

O ácido glutâmico ou glutamato é o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central (SNC). É um aminoácido não essencial, sintetizado na mitocôndria do neurônio e armazenado no citoplasma em vesículas sinápticas. A propagação dos impulsos nervosos promove a liberação do glutamato para a sinapse, por processo de exocitose (Flores-Soto, et al., 2012). Os receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) são os que parecem sofrer maior ativação pelo uso de drogas. Os receptores NMDA são na maioria dos casos hetero-oligômeros compostos de uma combinação de três subunidades que podem ser dos tipos NMDAR1 (GluN1), NMDAR2 (GluN2) ou NMDAR3 (GluN3) (Paoletti et al., 2013). A subunidade GluN2



pode ser ainda subdividida em A, B, C ou D (Paoletti et al., 2013). Majoritariamente a estrutura do receptor é composta por duas subunidades GluN1 e duas GluN2 ou GluN3 (Paoletti et al., 2013). A formação estrutural do NMDAR varia conforme a região e localização sináptica onde ele é expresso, sendo que sua estrutura também é determinante para funcionalidade do receptor (Paoletti et al., 2013), e tais fatores é que permitem o NMDAR mediar diferentes ações glutamatérgicas (Galvan et al., 2006). De maneira simplificada é possível considerar que os NMDAR localizados na fenda sináptica são formados por subunidades GluN1 e GluN2A, enquanto que os localizados em regiões extrasinápticas são formados por subunidades GluN1 e GluN2B (Paoletti et al., 2013).

O álcool afeta o glutamato por meio de sua ação inibitória sobre os receptores de glutamato do tipo N-metil D-aspartato (NMDA), produzindo amnésia e sedação (Krystal et al., 1999). O consumo crônico de álcool leva ao desenvolvimento de tolerância por meio de um processo de neuroadaptação onde os receptores no cérebro gradualmente se adaptam aos efeitos do álcool, para compensar a estimulação ou a sedação. Isto é experimentado pelo indivíduo quando a mesma quantidade de álcool provoca menos efeito ao longo do tempo. Isso normalmente leva o indivíduo a aumentar o consumo de álcool para alcançar os efeitos psicoativos desejados. Os principais neurotransmissores envolvidos na tolerância são o GABA e o glutamato, com a ingestão crônica de álcool está associada à redução da função inibitória do GABA e ao aumento da atividade glutamatérgica do receptor NMDA (Krystal et al., 2006, 2003). Este desequilíbrio GABA-glutamato é aceitável na presença de álcool, onde aumenta o GABA e reduz a atividade NMDA-glutamato. No entanto, quando o indivíduo dependente de álcool deixa de beber, o desequilíbrio entre esses sistemas de neurotransmissores faz com que o cérebro fique hiperativo após algumas horas, levando a sintomas desagradáveis de abstinência como ansiedade, sudorese, desejo, convulsões e alucinações (Krystal and Tabakoff, 2002). Há evidência de que a neurotransmissão mediada pelo glutamato desempenha um papel importante na mediação dos efeitos comportamentais do álcool administrado de forma aguda e as neuroadaptações associadas com a exposição crônica ao álcool, que fundamentam a sua dependência (Roberto, et al., 2004).

Já o ácido gama-aminobutírico, também conhecido pela sigla inglesa GABA (Gamma-Amino Butyric Acid), é o principal neurotransmissor inibidor no sistema nervoso central dos mamíferos. Ele desempenha um papel importante na regulação

da excitabilidade neuronal ao longo de todo o sistema nervoso (Watanabe et al., 2002). As funções do GABA parecem ser desencadeadas pela ligação do GABA aos seus receptores ionotrópicos, GABA (A) e GABA (C), que são controlados por canais de cloreto e seu receptor metabotrópico, GABA (B). Os receptores GABAA (GABAARs) são pentâmeros formados por subunidades que estão divididas em 8 classes:  $\alpha$  (1-6),  $\beta$  (1-3),  $\gamma$  (1-3),  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$  e  $\rho$  (1-3). A maioria dos GABAARs são constituídos por duas subunidades do tipo  $\alpha$ , duas  $\beta$  e uma  $\gamma$ , sendo que as isoformas mais comuns no SNC são  $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ ,  $\alpha 2\beta 3\gamma 2$  e  $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ . Os receptores que contém subunidades  $\alpha 4-6$ ,  $\beta 1$ ,  $\gamma 1$ ,  $\gamma 3$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  e  $\theta$  são menos numerosos, mas também apresentam importantes funções. As subunidades  $\rho$  formam homo ou heteroligômeros que possuem farmacologia distinta dos receptores formados por outras subunidades, sendo insensíveis a bicuculina, benzodiazepínicos (BZs) e barbitúricos (Goetz et al., 2007).

A ação do álcool sobre o GABA é semelhante aos efeitos de outros sedativos como os benzodiazepínicos e é responsável pelas propriedades sedativas e ansiolíticas do álcool (Krystal et al., 2006). A neuroplasticidade induzida pelo álcool afeta principalmente os receptores do ácido gama-aminobutírico A (GABAA). As ações do álcool nesses receptores GABAA variam nas diferentes regiões do cérebro e pode estar relacionado com a expressão das subunidades do receptor GABA A (Simson et al., 1991). Este receptor é composto por cinco subunidades que se associam para formar um canal de cloro. Famílias de subunidades (por exemplo,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ) e isoformas dentro de cada família (por exemplo,  $\alpha$  1-6) foram identificados (Hevers and Lüddens, 1998). Variação na composição das subunidades transmite distinções funcionais nos subtipos de receptores GABAA que podem ser relevantes para a ação do álcool. Estudos mostram que a subunidade  $\alpha 2$  do receptor GABA A é capaz de ativar receptores tipo *toll-like 4* (TLR4) na área tegmental ventral que regula o abuso de álcool e nicotina (Balan et al., 2018).

Para o cigarro, contudo, não há estudos avaliando o efeito do tabagismo sobre o sistema glutamatérgico. Já com relação a nicotina, os estudos se referem à sua administração por diferentes vias. Se sabe, por exemplo, que administração de nicotina, mesmo em doses moderadas, provoca convulsões em modelos animais (Rong, et al., 2014). Por outro lado, a autoadministração crônica de nicotina aumenta seletivamente a expressão das subunidades do receptor ionotrópicos de glutamato de maneira específica em regiões do cérebro (Wang, et al., 2007). Estudos que examina

o tecido cerebral dentro de 24 h após a interrupção da autoadministração de nicotina revelam diminuição de proteínas envolvidas com a sinalização do glutamato no núcleo acumbens (NAc), incluindo o transporte de glutamato glial e receptores pré-sinápticos mGluR2 e mGluR3 (Gipson, et al., 2013). Em relação ao sistema gabaérgico, estudos genéticos em humanos sugerem que os receptores GABAA contendo a subunidade  $\alpha 2$  podem ter um papel na dependência à nicotina (Agrawal et al., 2008b) e abuso de cannabis (Agrawal et al., 2008a).

#### 1.4 ESTUDOS IN VIVO SOBRE ÁLCOOL E NICOTINA NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

O álcool atravessa facilmente a barreira hematoencefálica, interferindo sobre uma ampla gama de sistemas neurotransmissores no cérebro, como o GABA, o glutamato, a dopamina e o opioide, levando às características da dependência ao álcool ( Nutt, 1999; Gilpin and Koob, 2008; Koob, 2004). Tais interações estão associadas a alterações comportamentais e cognitivas, além de déficit de memória, linguagem, atenção, aprendizagem, funções executivas, habilidades motoras e funcionamento social e adaptativo (Koob and Volkow, 2010). Em doses baixas o álcool promove desinibição comportamental e aumento da locomoção em animais (Gilpin and Koob, 2008). Doses elevadas ou administrações crônica de álcool promovem depressão do SNC, evidenciado por sonolência, ataxia e hiporreflexia (Gilpin and Koob, 2008). Em animais, estudos mostram que o uso agudo ou repetido de álcool reduz a ambulação (Al-Rejaie and Dar, 2006). Esse comportamento é revertido pelo uso crônico, evidenciando efeito de tolerância sobre o efeito depressor do álcool sobre o SNC (de Araujo et al., 2009; Martín-García and Pallarès, 2005).

A nicotina, por sua vez, principal princípio ativo do cigarro, também interage com diferentes sistemas neurotransmissores como o colinérgico e o dopaminérgico, este último, como descrito anteriormente está associado aos efeitos de prazer e bem estar produzidos pela nicotina e outras drogas de abuso (Benowitz, 2008; Gerasimov et al., 2000). A nicotina também interage com receptores adrenérgicos, aumentando o estado de alerta. Administração da nicotina em roedores ou sua absorção por meio da inalação da fumaça do cigarro está associada a sinais como excitabilidade, aumento de estado de alerta, insônia, aumento da cognição e redução da ansiedade (Olausson et al., 2001; Wooters et al., 2008). Administração aguda de nicotina está associada ao aumento do desempenho em tarefas cognitivas em roedores (Gulick and

Gould, 2008; Wooters et al., 2008). A interferência da nicotina sobre a ambulação é ainda mais controversa e dependente da dose ou tempo de exposição, enquanto alguns estudos observam redução, outros observam aumento da atividade locomotora em ratos (Turcatel et al., 2012; Olausson et al., 2001).

Percebe-se que tanto o álcool quanto a nicotina estimulam vias comuns de recompensa associados a mecanismos de dependência e também de síndrome de abstinência. Embora o SNC seja o principal alvo da ação do álcool e da nicotina, pouco se sabe sobre os efeitos do uso do álcool associado à fumaça de cigarro sobre o comportamento de animais. Em ratos neonatos, uso combinado de álcool e nicotina potencializou o efeito ansiolítico, evidenciado pelo aumento da locomoção central dos animais quando testados no campo aberto (Gilbertson and Barron, 2005). Outro estudo mostrou que álcool via oral e nicotina administrada em baixas doses no hipocampo não altera comportamentos no campo aberto, no entanto quando administrada em altas doses promove efeito ansiogênico (File et al., 1998; Martín-García and Pallarès, 2005).

## 1.5 JUSTIFICATIVA

O uso de álcool e cigarro é extremamente elevado na população e apresenta graves problemas de saúde pública. Poucos estudos avaliaram as consequências do consumo dessas drogas associadas, embora haja uma elevada frequência da associação dessas drogas ilícitas. Levando em consideração os estudos na área, grande parte deles, avalia os efeitos da nicotina isolada e administrada por via intraperitoneal. Nosso modelo experimental difere nesse sentido pois avaliamos a inalação completa de todos os constituintes (cerca de 4.300) da fumaça do cigarro. O álcool foi administrado por gavagem que tem como vantagem o controle da alcoolemia dos animais. As duas drogas foram administradas mimetizando o consumo em humanos.

Devido a carência de estudos avaliando a interação da exposição a fumaça de cigarro juntamente com a dependência de álcool, testamos a hipótese de que o co-abuso dessas drogas é mais danoso do que seu consumo isolado. Dessa forma, é de extrema importância estudos para elucidar os efeitos comportamentais e neuroquímicos dessas drogas associadas sobre o sistema nervoso central.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da associação entre álcool e fumaça de cigarro sobre parâmetros comportamentais e neuroquímicos de ratos machos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Avaliar o efeito crônico da associação entre álcool e fumaça de cigarro sobre o comportamento de ratos, pelo emprego do teste de campo aberto (Artigo 1).
- b. Determinar o volume encefálico de ratos expostos cronicamente ao álcool e a fumaça de cigarro (Artigo 1).
- c. Avaliar através da técnica imunohistoquímica (NeuN) a densidade neuronal na região CA1 do hipocampo de ratos tratados cronicamente com álcool e fumaça de cigarro (Artigo 1).
- d. Avaliar o efeito crônico da associação entre álcool e fumaça de cigarro sobre o comportamento de ratos, pelo emprego dos testes de caixa de locomoção, labirinto em cruz elevado e caixa claro-escuro (Artigo 2).
- e. Determinar os níveis de glutamato no líquor de animais tratados cronicamente com a associação entre álcool e fumaça de cigarro (Artigo 2).
- f. Avaliar a expressão de RNAm das subunidades  $\alpha 1$  e  $\alpha 4$  do receptor GABAA e GluN2A e GluN2B de NMDA pela técnica de PCR em tempo real, no hipocampo de ratos expostos cronicamente ao álcool e a fumaça de cigarro (Artigo 2).

### **3. ARTIGO PUBLICADO**

A seguir está apresentado o primeiro artigo referente a este estudo, que foi publicado no periódico *Behavioural Pharmacology* (Fator de impacto 1.854) em fevereiro de 2019, intitulado “Changes in behavioral and neuronal parameters by alcohol, cigarette, or their combined use in rats”.

## Changes in behavioral and neuronal parameters by alcohol, cigarette, or their combined use in rats

Solange Bandiera<sup>a</sup>, Greice Caletti<sup>a</sup>, Clara L.D. Giustina<sup>a</sup>, Alana W. Hansen<sup>a</sup>, Bruna F. Deniz<sup>b</sup>, Heloisa D. Confortim<sup>b</sup>, Rianne R. Pulcinelli<sup>a</sup>, Mauricio S. Nin<sup>a,c</sup>, Lenir O.P. Silva<sup>b</sup> and Rosane Gomez<sup>a,b</sup>

Few studies have explored the effects of the combined use of alcohol and cigarette in humans, despite its prevalence. Here we evaluated the effect of isolated and combined use on behaviors and neuronal parameters in rats. Male adult rats were divided into alcohol (AL, 2 g/kg, by oral gavage), cigarette smoke (TB, six cigarettes, by inhalation), combined use (ALTB), or control (CT, water by oral gavage and environmental air) groups, treated twice a day (09.00 and 14.00 h). After 4 weeks, the rats were tested in the open field for behavioral analysis and euthanized for brain volume estimation and counting of neurons in the hippocampus. All treatments increased locomotion, and this behavior was higher in the ALTb than TB group. Latency to exit from the central area was lower in the ALTb than in the AL or CT groups. Rearing behavior increased in TB and decreased in AL and ALTb rats. Combined ALTb rats significantly increased their grooming behavior. Only the AL group showed decreased neuron counts and increased brain

volume. Our results show that the isolated and combined uses of alcohol and cigarette smoke have diverse effects on behavioral and neuronal parameters in rats after long-term treatment. *Behavioural Pharmacology* 00:000–000

Copyright © 2019 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

*Behavioural Pharmacology* 2019, 00:000–000

**Keywords:** addiction, anxiety, ethanol, hippocampus, NeuN, rat, tobacco

<sup>a</sup>Department of Pharmacology, Postgraduate Program in Pharmacology and Therapeutics, <sup>b</sup>Department of Pharmacology, Postgraduate Program in Neuroscience, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) and <sup>c</sup>Metodist University - IPA, Porto Alegre, Brazil

Correspondence to Greice Caletti, PhD, Federal University of Rio Grande do Sul, Institute of Basic Health Sciences, Sarmento Leite street, 500/313, 90050-170 Porto Alegre, Brazil  
E-mail: cgreice@hotmail.com

Received 1 August 2018 Accepted as revised 10 January 2019

## 5. DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que uso combinado de álcool e fumaça de cigarro não foi capaz de reverter o comprometimento motor induzido apenas pela administração de álcool, rejeitando uma das nossas hipóteses onde acreditávamos que o uso combinado dessas drogas pudesse reduzir os efeitos indesejados de uma ou outra droga, ou seja, redução do efeito inibitório do álcool sobre o sistema nervoso central ou a redução do efeito estimulante induzido pela nicotina presente no cigarro. Demonstramos ainda, no teste de campo aberto, um efeito ansiolítico adicional do uso associado, e um efeito robusto no comportamento de grooming desses animais.

Sabendo do envolvimento dos sistemas GABA e glutamato na dependência a essas drogas, avaliamos os níveis de glutamato no líquido cefalorraquidiano e a expressão de RNAm de subunidades tanto de receptores GABAA quanto de NMDAR no hipocampo. Não observamos diferença significativa na expressão dessas subunidades e isto provavelmente se deve a área encefálica estudada. Acreditamos que de fato, não existem alterações dessas subunidades no hipocampo. Talvez em outras áreas encefálicas envolvidas na dependência possam ocorrer variações.

Para os níveis de glutamato no líquido cefalorraquidiano, observamos um aumento significativo nos animais tratados com a associação. Esses resultados sugerem que o uso associado de álcool e cigarro prolongam a sensação de prazer devido ao aumento persistente do neurotransmissor glutamato, possivelmente devido ao aumento da transmissão dopaminérgica. Os resultados obtidos nesta tese contribuem para a elucidação de algumas alterações decorrentes do uso combinado de álcool e cigarro. Portanto, tais resultados sugerem que os indivíduos usam essas drogas associadas para prolongar os efeitos prazerosos ou reduzir efeitos adversos associados à abstinência de uma ou outra droga.

Frente a esses resultados, ressaltamos a importância da elucidação das alterações existentes nos sistemas GABAérgico e glutamatérgico e assim, o possível desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento dos indivíduos que fazem uso dessas drogas associadas.



## 5. CONCLUSÃO GERAL

- O efeito psicoestimulante observado pelo uso combinado de álcool e tabaco persiste mesmo após curto período de abstinência e está correlacionado com a concentração de glutamato no LCF. Tais efeitos podem estar relacionados à ativação sustentada das vias de recompensa, justificando em parte a elevada prevalência do uso combinado de álcool e cigarro em humanos.
- Uso combinado atenua o efeito ansiogênico observado após curto período de abstinência ao cigarro. A redução da ansiedade também poderia justificar o uso associado dessas drogas.
- Compreender os mecanismos envolvidos no uso combinado de álcool e cigarro pode ajudar a identificar alvos terapêuticos para reduzir os sintomas de abstinência e recaída.
- Uso combinado de álcool e fumaça de cigarro não foi capaz de reverter o comprometimento motor induzido apenas pela administração de álcool.
- Uso associado de álcool e cigarro prolongam a sensação de prazer (devido ao aumento do glutamato), possivelmente devido ao aumento da transmissão dopaminérgica.
- Os indivíduos usam essas drogas associadas para prolongar os efeitos prazerosos ou reduzir efeitos adversos associados à abstinência de uma ou outra droga.
- É de extrema importância a elucidação das alterações nos sistemas GABAérgico e glutamatérgico para o possível desenvolvimento de fármacos para o tratamento de usuários dependentes das duas drogas.

## 6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS

Em função do modelo experimental que envolve exposição a fumaça de cigarro, não foi possível realizar a técnica de microdiálise, na qual poderíamos dosar o glutamato em áreas encefálicas específicas. Dessa forma, dosamos o glutamato no líquido cefalorraquidiano, o qual demonstra uma visão ampla e não específica dos níveis de glutamato.

Outra limitação do nosso estudo foi a ausência das dosagens de GABA. Esse fato se deu em função da falha na padronização da técnica por HPLC, onde os picos de GABA são sobrepostos pelos picos da glicina, não sendo possível padronizar a técnica para dosar o GABA isoladamente.

Uma perspectiva para a continuação deste trabalho é analisar as subunidades  $\alpha 1$  e  $\alpha 4$  do receptor GABAA e GluN2A e GluN2B do receptor NMDA de glutamato no córtex frontal e estriado (amostras armazenadas), áreas encefálicas também envolvidas com a dependência. Ainda considerando essa hipótese que a resposta das drogas é região específica, pretendemos se possível, realizar um novo experimento para avaliar as subunidades em outras áreas encefálicas, como a área tegmental ventral e amígdala.

Adicionalmente, seria de grande interesse avaliar, após submetidos ao mesmo protocolo de exposição crônica ao álcool e a fumaça de cigarro, a expressão das subunidades de GABA<sub>A</sub> e NMDA em diferentes protocolos de exposição, por exemplo, após exposição aguda, e diferentes períodos da abstinência após exposição crônica.

## REFERÊNCIAS

- Agrawal, A., Morley, K.I., Hansell, N.K., Pergadia, M.L., Montgomery, G.W., Statham, D.J., Todd, R.D., Madden, P.A.F., Heath, A.C., Whitfield, J., Martin, N.G., Lynskey, M.T., 2008a. Autosomal Linkage Analysis for Cannabis Use Behaviors in Australian Adults. *Drug Alcohol Depend.* 98, 185–190. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2008.05.009>
- Agrawal, A., Pergadia, M.L., Saccone, S.F., Hinrichs, A.L., Lessov-Schlaggar, C.N., Saccone, N.L., Neuman, R.J., Breslau, N., Johnson, E., Hatsukami, D., Montgomery, G.W., Heath, A.C., Martin, N.G., Goate, A.M., Rice, J.P., Bierut, L.J., Madden, P.A.F., 2008b. Gamma-aminobutyric acid receptor genes and nicotine dependence: evidence for association from a case-control study. *Addict.* Abingdon Engl. 103, 1027–1038. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2008.02236.x>
- Almeida, R.F., Comasseto, D.D., Ramos, D.B., Hansel, G., Zimmer, E.R., Loureiro, S.O., Ganzella, M., Souza, D.O., 2017. Guanosine Anxiolytic-Like Effect Involves Adenosinergic and Glutamatergic Neurotransmitter Systems. *Mol. Neurobiol.* 54, 423–436. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9660-x>
- Al-Rejaie, S., Dar, M.S., 2006. Antagonism of ethanol ataxia by intracerebellar nicotine: Possible modulation by mouse cerebellar nitric oxide and cGMP. *Brain Res. Bull.* 69, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.12.002>
- Arrant, A.E., Schramm-Sapyta, N.L., Kuhn, C.M., 2013. Use of the light/dark test for anxiety in adult and adolescent male rats. *Behav. Brain Res.* 256, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.05.035>
- Balan, I., Warnock, K.T., Puche, A., Gondre-Lewis, M.C., June, H., Aurelian, L., 2018. The GABAA Receptor  $\alpha 2$  Subunit Activates a Neuronal TLR4 Signal in the Ventral Tegmental Area that Regulates Alcohol and Nicotine Abuse. *Brain Sci.* 8. <https://doi.org/10.3390/brainsci8040072>
- Bandiera, S., Caletti, G., Giustina, C.L.D., Hansen, A.W., Deniz, B.F., Confortim, H.D., Pulcinelli, R.R., Nin, M.S., Silva, L.O.P., Gomez, R., 2019. Changes in behavioral and neuronal parameters by alcohol, cigarette, or their combined use in rats. *Behav. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000476>
- Benowitz, N.L., 2008. Neurobiology of Nicotine Addiction: Implications for Smoking Cessation Treatment. *Am. J. Med.* 121, S3–S10. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2008.01.015>
- Cheeta, S., Tucci, S., File, S.E., 2001. Antagonism of the anxiolytic effect of nicotine in the dorsal raphe nucleus by dihydro-beta-erythroidine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 70, 491–496.
- CISA, 2018. Relatório Global sobre Álcool e Saúde - 2018 [WWW Document]. CISA. URL <http://www.cisa.org.br/artigo/10049/relatorio-global-sobre-alcool-saude-2018.php> (accessed 3.24.19).
- Cruz, A.P.M., Frei, F., Graeff, F.G., 1994. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 49, 171–176. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(94\)90472-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(94)90472-3)
- Danielson, K., Putt, F., Truman, P., Kivell, B.M., 2014. The effects of nicotine and tobacco particulate matter on dopamine uptake in the rat brain. *Synap. N. Y. N* 68, 45–60. <https://doi.org/10.1002/syn.21715>
- Dawson, D.A., 2000. Drinking as a risk factor for sustained smoking. *Drug Alcohol Depend.* 59, 235–249.

- de Araujo, N.P., Fukushiro, D.F., Grassl, C., Hipólido, D.C., Souza-Formigoni, M.L.O., Tufik, S., Frussa-Filho, R., 2009. Ethanol-induced behavioral sensitization is associated with dopamine receptor changes in the mouse olfactory tubercle. *Physiol. Behav.* 96, 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.07.029>
- Deng, C., Li, K.-Y., Zhou, C., Ye, J.-H., 2009. Ethanol enhances glutamate transmission by retrograde dopamine signaling in a postsynaptic neuron/synaptic bouton preparation from the ventral tegmental area. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 34, 1233–1244. <https://doi.org/10.1038/npp.2008.143>
- DiFranza, J.R., Guerrera, M.P., 1990. Alcoholism and smoking. *J. Stud. Alcohol* 51, 130–135.
- Dodd, P.R., Beckmann, A.M., Davidson, M.S., Wilce, P.A., 2000. Glutamate-mediated transmission, alcohol, and alcoholism. *Neurochem. Int.* 37, 509–533.
- D'Souza, M.S., Markou, A., 2014. Differential role of N-methyl-D-aspartate receptor-mediated glutamate transmission in the nucleus accumbens shell and core in nicotine seeking in rats. *Eur. J. Neurosci.* 39, 1314–1322. <https://doi.org/10.1111/ejn.12491>
- Duan, J.-J., Lozada, A.F., Gou, C.-Y., Xu, J., Chen, Y., Berg, D.K., 2015. Nicotine recruits glutamate receptors to postsynaptic sites. *Mol. Cell. Neurosci.* 68, 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2015.09.002>
- Elis Turcatel, Cláudia da Silva Funchal, Rosane Gomez, 2012. Alterações Comportamentais e de Estresse Oxidativo no Sistema Nervoso Central pelo Uso de Álcool e Tabaco 444–454.
- Ewin, S.E., Morgan, J.W., Niere, F., McMullen, N.P., Barth, S.H., Almonte, A.G., Raab-Graham, K.F., Weiner, J.L., 2019. Chronic Intermittent Ethanol Exposure Selectively Increases Synaptic Excitability in the Ventral Domain of the Rat Hippocampus. *Neuroscience* 398, 144–157. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.028>
- File, S.E., Kenny, P.J., Ouagazzal, A.M., 1998a. Bimodal modulation by nicotine of anxiety in the social interaction test: role of the dorsal hippocampus. *Behav. Neurosci.* 112, 1423–1429.
- File, S.E., Kenny, P.J., Ouagazzal, A.M., 1998b. Bimodal modulation by nicotine of anxiety in the social interaction test: role of the dorsal hippocampus. *Behav. Neurosci.* 112, 1423–1429.
- Galvan, A., Kuwajima, M., Smith, Y., 2006. Glutamate and GABA receptors and transporters in the basal ganglia: What does their subsynaptic localization reveal about their function? *Neuroscience* 143, 351–375. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.09.019>
- Gass, J.T., Olive, M.F., 2008. Glutamatergic substrates of drug addiction and alcoholism. *Biochem. Pharmacol.* 75, 218–265. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.06.039>
- Gerasimov, M.R., Franceschi, M., Volkow, N.D., Rice, O., Schiffer, W.K., Dewey, S.L., 2000. Synergistic interactions between nicotine and cocaine or methylphenidate depend on the dose of dopamine transporter inhibitor. *Synapse* 38, 432–437. [https://doi.org/10.1002/1098-2396\(20001215\)38:4<432::AID-SYN8>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1098-2396(20001215)38:4<432::AID-SYN8>3.0.CO;2-Q)
- Gilbertson, R.J., Barron, S., 2005. Neonatal ethanol and nicotine exposure causes locomotor activity changes in preweanling animals. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 81, 54–64. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.02.002>

- Gilpin, N.W., Koob, G.F., 2008. Neurobiology of alcohol dependence: focus on motivational mechanisms. *Alcohol Res. Health J. Natl. Inst. Alcohol Abuse Alcohol.* 31, 185–195.
- Gilpin, N.W., Smith, A.D., Cole, M., Weiss, F., Koob, G.F., Richardson, H.N., 2009. Operant behavior and alcohol levels in blood and brain of alcohol-dependent rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 33, 2113–2123. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01051.x>
- Goetz, T., Arslan, A., Wisden, W., Wulff, P., 2007. GABAA receptors. *Prog. Brain Res.* 160, 21–41. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(06\)60003-4](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(06)60003-4)
- Gomez, R., Schneider, R., Quinteros, D., Santos, C.F., Bandiera, S., Thiesen, F.V., Coitinho, A.S., Fernandes, M. da C., Wiczorek, M.G., 2015. Effect of Alcohol and Tobacco Smoke on Long-Term Memory and Cell Proliferation in the Hippocampus of Rats. *Nicotine Tob. Res. Off. J. Soc. Res. Nicotine Tob.* 17, 1442–1448. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntv051>
- Goodwani, S., Saternos, H., Alasmari, F., Sari, Y., 2017. Metabotropic and ionotropic glutamate receptors as potential targets for the treatment of alcohol use disorder. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 77, 14–31. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.02.024>
- Gulick, D., Gould, T.J., 2008. Interactive effects of ethanol and nicotine on learning in C57BL/6J mice depend on both dose and duration of treatment. *Psychopharmacology (Berl.)* 196, 483–495. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0982-x>
- Hevers, W., Lüddens, H., 1998. The diversity of GABAA receptors. Pharmacological and electrophysiological properties of GABAA channel subtypes. *Mol. Neurobiol.* 18, 35–86. <https://doi.org/10.1007/BF02741459>
- Ishibashi, M., Yamazaki, Y., Miledi, R., Sumikawa, K., 2014. Nicotinic and muscarinic agonists and acetylcholinesterase inhibitors stimulate a common pathway to enhance GluN2B-NMDAR responses. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 12538–12543. <https://doi.org/10.1073/pnas.1408805111>
- Jacob, T.C., Moss, S.J., Jurd, R., 2008. GABAA receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 331–343. <https://doi.org/10.1038/nrn2370>
- José, B.P. de S., Corrêa, R. de A., Malta, D.C., Passos, V.M. de A., França, E.B., Teixeira, R.A., Camargos, P.A.M., 2017. Mortality and disability from tobacco-related diseases in Brazil, 1990 to 2015. *Rev. Bras. Epidemiol. Braz. J. Epidemiol.* 20Suppl 01, 75–89. <https://doi.org/10.1590/1980-5497201700050007>
- Joseph, M.H., Marsden, C.A., 1986. Amino acids and small peptides. In *HPLC of small molecules, a practical approach*. Press, Oxford, United Kingdom.
- Kalivas, P.W., Volkow, N.D., 2005. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am. J. Psychiatry* 162, 1403–1413. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.162.8.1403>
- Koob, G.F., 2004. A role for GABA mechanisms in the motivational effects of alcohol. *Biochem. Pharmacol., Six Decades of GABA* 68, 1515–1525. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.07.031>
- Koob, G.F., Le Moal, M., 2001. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 24, 97–129. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00195-0](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00195-0)
- Koob, G.F., Volkow, N.D., 2016. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry* 3, 760–773. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)

- Koob, G.F., Volkow, N.D., 2010. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 35, 217–238.
- Krystal, J.H., D'Souza, D.C., Petrakis, I.L., Belger, A., Berman, R.M., Charney, D.S., Abi-Saab, W., Madonick, S., 1999. NMDA agonists and antagonists as probes of glutamatergic dysfunction and pharmacotherapies in neuropsychiatric disorders. *Harv. Rev. Psychiatry* 7, 125–143.
- Krystal, J.H., Petrakis, I.L., Mason, G., Trevisan, L., D'Souza, D.C., 2003. N-methyl-D-aspartate glutamate receptors and alcoholism: reward, dependence, treatment, and vulnerability. *Pharmacol. Ther.* 99, 79–94.
- Krystal, J.H., Staley, J., Mason, G., Petrakis, I.L., Kaufman, J., Harris, R.A., Gelernter, J., Lappalainen, J., 2006. Gamma-aminobutyric acid type A receptors and alcoholism: intoxication, dependence, vulnerability, and treatment. *Arch. Gen. Psychiatry* 63, 957–968. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.9.957>
- Krystal, J.H., Tabakoff, B., 2002. *Ethanol Abuse, Dependence, and Withdrawal: Neurobiology and Clinical Implications*.
- Lallemand, F., Ward, R.J., De Witte, P., 2007. Nicotine increases ethanol preference but decreases locomotor activity during the initial stages of chronic ethanol withdrawal. *Alcohol Alcohol. Oxf. Oxf.* 42, 207–218. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agm023>
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods San Diego Calif* 25, 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Mansvelder, H.D., Keath, J.R., McGehee, D.S., 2002. Synaptic mechanisms underlie nicotine-induced excitability of brain reward areas. *Neuron* 33, 905–919.
- Mansvelder, H.D., McGehee, D.S., 2002. Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *J. Neurobiol.* 53, 606–617. <https://doi.org/10.1002/neu.10148>
- Martín-García, E., Pallarès, M., 2005. Intrahippocampal nicotine and neurosteroids effects on the anxiety-like behaviour in voluntary and chronic alcohol-drinking rats. *Behav. Brain Res.* 164, 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.06.007>
- Meyerhoff, D.J., Tizabi, Y., Staley, J.K., Durazzo, T.C., Glass, J.M., Nixon, S.J., 2006a. Smoking comorbidity in alcoholism: neurobiological and neurocognitive consequences. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 30, 253–264. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00034.x>
- Meyerhoff, D.J., Tizabi, Y., Staley, J.K., Durazzo, T.C., Glass, J.M., Nixon, S.J., 2006b. Smoking comorbidity in alcoholism: neurobiological and neurocognitive consequences. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 30, 253–264. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00034.x>
- Miwa, J.M., Freedman, R., Lester, H.A., 2011. Neural Systems Governed by Nicotinic Acetylcholine Receptors: Emerging Hypotheses. *Neuron* 70, 20–33. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.03.014>
- Moussawi, K., Kalivas, P.W., 2010. Group II metabotropic glutamate receptors (mGlu2/3) in drug addiction. *Eur. J. Pharmacol.* 639, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.01.030>
- Nagy, J., 2004. The NR2B subtype of NMDA receptor: a potential target for the treatment of alcohol dependence. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* 3, 169–179.
- Narhashi, T., Söderpalm, B., Ericson, M., Olausson, P., Engel, J.A., Zhang, X., Nordberg, A., Marszalec, W., Aistrup, G.L., Schmidt, L.G., Kalouti, U., Smolka

- And, M., Hedlund, L., 2001a. Mechanisms of alcohol-nicotine interactions: alcoholics versus smokers. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 25, 152S-156S.
- Narahashi, T., Söderpalm, B., Ericson, M., Olausson, P., Engel, J.A., Zhang, X., Nordberg, A., Marszalec, W., Aistrup, G.L., Schmidt, L.G., Kalouti, U., Smolka And, M., Hedlund, L., 2001b. Mechanisms of alcohol-nicotine interactions: alcoholics versus smokers. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 25, 152S-156S.
- Nestler, E.J., 2005. Is there a common molecular pathway for addiction? *Nat. Neurosci.* 8, 1445–1449. <https://doi.org/10.1038/nn1578>
- Nutt, D., 1999. Alcohol and the brain. Pharmacological insights for psychiatrists. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* 175, 114–119.
- Olausson, P., Åkesson, P., Petersson, A., Engel, J.A., Söderpalm, B., 2001. Behavioral and neurochemical consequences of repeated nicotine treatment in the serotonin-depleted rat. *Psychopharmacology (Berl.)* 155, 348–361. <https://doi.org/10.1007/s002130100710>
- Paoletti, P., Bellone, C., Zhou, Q., 2013a. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 383–400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>
- Paoletti, P., Bellone, C., Zhou, Q., 2013b. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 383–400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>
- Papadeas, S., Grobin, A.C., Morrow, A.L., 2001. Chronic ethanol consumption differentially alters GABA(A) receptor alpha1 and alpha4 subunit peptide expression and GABA(A) receptor-mediated  $^{36}\text{Cl}^-$  uptake in mesocorticolimbic regions of rat brain. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 25, 1270–1275.
- Proctor, W.R., Dobelis, P., Moritz, A.T., Wu, P.H., 2011a. Chronic nicotine treatment differentially modifies acute nicotine and alcohol actions on GABA(A) and glutamate receptors in hippocampal brain slices. *Br. J. Pharmacol.* 162, 1351–1363. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01141.x>
- Proctor, W.R., Dobelis, P., Moritz, A.T., Wu, P.H., 2011b. Chronic nicotine treatment differentially modifies acute nicotine and alcohol actions on GABA(A) and glutamate receptors in hippocampal brain slices. *Br. J. Pharmacol.* 162, 1351–1363. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01141.x>
- Roberto, M., Varodayan, F.P., 2017. Synaptic targets: Chronic alcohol actions. *Neuropharmacology* 122, 85–99. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.01.013>
- Schaefer, G.J., Michael, R.P., 1992. Interactions between alcohol and nicotine on intracranial self-stimulation and locomotor activity in rats. *Drug Alcohol Depend.* 30, 37–47.
- Simson, P.E., Criswell, H.E., Breese, G.R., 1991. Ethanol potentiates gamma-aminobutyric acid-mediated inhibition in the inferior colliculus: evidence for local ethanol/gamma-aminobutyric acid interactions. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 259, 1288–1293.
- Swartzwelder, H.S., Hogan, A., Risher, M.-L., Swartzwelder, R.A., Wilson, W.A., Acheson, S.K., 2014. Effect of sub-chronic intermittent ethanol exposure on spatial learning and ethanol sensitivity in adolescent and adult rats. *Alcohol Fayettev. N* 48, 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2014.02.003>
- Watanabe, M., Maemura, K., Kanbara, K., Tamayama, T., Hayasaki, H., 2002. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *Int. Rev. Cytol.* 213, 1–47.

- WHO, 2018a. Tobacco [WWW Document]. URL <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco> (accessed 1.23.19).
- WHO, 2018b. Alcohol [WWW Document]. URL <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/alcohol> (accessed 1.23.19).
- Wooters, T.E., Neugebauer, N.M., Rush, C.R., Bardo, M.T., 2008. Methylphenidate Enhances the Abuse-Related Behavioral Effects of Nicotine in Rats: Intravenous Self-Administration, Drug Discrimination, and Locomotor Cross-Sensitization. *Neuropsychopharmacology* 33, 1137–1148. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301477>
- Wscieklica, T., de Barros Viana, M., Le Sueur Maluf, L., Pouza, K.C.P., Spadari, R.C., Céspedes, I.C., 2016. Alcohol consumption increases locomotion in an open field and induces Fos-immunoreactivity in reward and approach/withdrawal-related neurocircuitries. *Alcohol* 50, 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2015.11.005>
- Yamazaki, Y., Jia, Y., Wong, J.K., Sumikawa, K., 2006. Chronic nicotine-induced switch in Src-family kinase signaling for long-term potentiation induction in hippocampal CA1 pyramidal cells. *Eur. J. Neurosci.* 24, 3271–3284. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05213.x>
- Yamazaki, Y., Sumikawa, K., 2017. Nicotine-induced neuroplasticity counteracts the effect of schizophrenia-linked neuregulin 1 signaling on NMDAR function in the rat hippocampus. *Neuropharmacology* 113, 386–395. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.10.021>
- Zaleski, M., Laranjeira, R.R., Marques, A.C.P.R., Ratto, L., Romano, M., Alves, H.N.P., de Macedo Soares, M.B., Abelardino, V., Kessler, F., Brasiliano, S., Nicastri, S., Brunferntinker Hochgraf, P., de Paula Gigliotti, A., Lemos, T., 2017. Guidelines of the Brazilian Association of Studies on Alcohol and Other Drugs (ABEAD) for diagnosis and treatment of psychiatric comorbidity with alcohol and other substance and dependence. *Int. Rev. Psychiatry Abingdon Engl.* 29, 254–262. <https://doi.org/10.1080/09540261.2017.1285552>
- Zhao, Y., Ren, H., Dwyer, D.S., Peoples, R.W., 2015. Different sites of alcohol action in the NMDA receptor GluN2A and GluN2B subunits. *Neuropharmacology* 97, 240–250. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.05.018>



## ANEXO A – TRABALHOS DESENVOLVIDOS DURANTE O DOUTORADO

### 1- Artigos publicados

1. A. QUINTEIROS, DAYANE; WITT HANSEN, ALANA; BELLAYER, BRUNA; BOBERMIN, LARISSA; REMUS PULCINELLI, RIANNE; **BANDIERA, SOLANGE**; CALETTI, GREICE; BITENCOURT, PAULA; QUINCOZES-SANTOS, ANDRÉ; GOMEZ, ROSANE. Combined use of alcohol and tobacco smoke change oxidative, inflammatory, and neurotrophic parameters in different brain areas of rats. ACS Chemical Neuroscience, v. 1, p. 1/29, 2019.
2. **BANDIERA, SOLANGE**; CALETTI, GREICE; GIUSTINA, CLARA L.D.; HANSEN, ALANA W.; DENIZ, BRUNA F.; CONFORTIM, HELOISA D.; PULCINELLI, RIANNE R.; NIN, MAURICIO S.; SILVA, LENIR O.P.; GOMEZ, ROSANE. Changes in behavioral and neuronal parameters by alcohol, cigarette, or their combined use in rats. BEHAVIOURAL PHARMACOLOGY, v. 1, p. 1, 2019.
3. GOMEZ, ROSANE; CALETTI, GREICE; ARBO, BRUNO DUTRA; HOEFEL, ANA LÚCIA; SCHNEIDER, RICARDO; HANSEN, ALANA WITT; PULCINELLI, RIANNE REMUS; FREESE, LUANA; **BANDIERA, SOLANGE**; KUCHARSKI, LUIZ CARLOS; BARROS, HELENA MARIA TANHAUSER. Acute intraperitoneal administration of taurine decreases the glycemia and reduces food intake in type 1 diabetic rats. BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY, v. 103, p. 1028-1034, 2018.
4. HUF, FERNANDA; **BANDIERA, SOLANGE**; MÜLLER, CAROLINA B.; GEA, LUIZA; CARVALHO, FABIANO B.; RAHMEIER, FRANCINE L.; REITER, KELI C.; TORTORELLI, LUCAS S.; GOMEZ, ROSANE; DA CRUZ FERNANDES, MARILDA. Comparative study on the effects of cigarette smoke exposure, ethanol consumption and association: behavioral parameters, apoptosis, glial fibrillary acid protein and S100 $\beta$  immunoreactivity in different regions of the rat hippocampus. ALCOHOL, v. 1, p. 1/29, 2018.
5. SCHNEIDER, RICARDO; **BANDIERA, SOLANGE**; SOUZA, DÉBORA GUERINI; BELLAYER, BRUNA; CALETTI, GREICE; QUINCOZES-SANTOS, ANDRÉ;

ELISABETSKY, ELAINE; GOMEZ, ROSANE. N-acetylcysteine Prevents Alcohol Related Neuroinflammation in Rats. *NEUROCHEMICAL RESEARCH*, v. 1, p. 1/7, 2017.

6. HANSEN, ALANA WITT; ALMEIDA, FELIPE BORGES; **BANDIERA, SOLANGE**; PULCINELLI, RIANNE REMUS; FRAGOSO, ANA LUIZA RODRIGUES; SCHNEIDER, RICARDO; BARROS, HELENA MARIA TANNHAUSER; GOMEZ, ROSANE. Taurine restores the exploratory behavior following alcohol withdrawal and decreases BDNF mRNA expression in the frontal cortex of chronic alcohol-treated rats. *PHARMACOLOGY BIOCHEMISTRY AND BEHAVIOR*, v. 161, p. 6-12, 2017.

## 2- Capítulo de livro

GOMEZ, R.; SOUZA, M. F.; **BANDIERA, S.** Farmacologia dos Antiparasitários. In: Rosane Gomez; Iraci Torres. (Org.). *Farmacologia Clínica*. 1ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017, v. 1, p. 222-234.

## 3- Resumos publicados em anais de eventos

1. **BANDIERA, S.**; CALETTI, G.; Hansen A.W; PULCINELLI, R. R.; PAULA, L. F.; NIEDIEDT, N. A.; BITENCOURT, P. E. R.; GOMEZ, R. Exposição crônica ao álcool e a fumaça do cigarro altera parâmetros comportamentais em ratos. In: II Simpósio Gaúcho de Farmacologia, 2018, Porto Alegre.

2. PAULA, L. F.; Hansen A.W; ALMEIDA, FELIPE BORGES; **BANDIERA, S.**; PULCINELLI, R. R; CALETTI, G.; AGNES, G.; NIN, M.; NIEDIEDT, N. A.; BARROS, H. M. T.; GOMEZ, R. Expressão de RNAm da subunidade glun2a de NMDA no hipocampo de ratos está correlacionado ao comportamento de grooming. In: II Simpósio Gaúcho de Farmacologia, 2018, Porto Alegre.

3. NIEDIEDT, N. A.; Hansen A.W; ALMEIDA, FELIPE BORGES; **BANDIERA, S.** ; PULCINELLI, R. R. ; CALETTI, G.; AGNES, G. ; NIN, M.; PAULA,

L. F. ; BARRROS, H. M. T.; GOMEZ, R. Álcool e taurina alteram a correlação entre as subunidades GLUN2A e GLUN2B do NMDA no hipocampo de ratos. In: II Simpósio Gaúcho de Farmacologia, 2018, Porto Alegre.

4. GOMEZ, R; QUINTEROS, D. ; BELLAVER, BRUNA ; PULCINELLI, R. R. ; **BANDIERA, S.** ; BOBERMIN, L. ; HANSEN, ALANA WITT ; QUINCOZES-SANTOS, ANDRÉ . Combined use of alcohol and cigarette is more deleterious than either drug alone in the rat brain. In: Neuroscience 2018, San Diego, CA.

5. PULCINELLI, R. R.; PAULA, L. F.; NIEDIEDT, N. A.; Garofalo CB; HANSEN, ALANA WITT; **BANDIERA, S.**; BITENCOURT, PAULA; GOMEZ, ROSANE. Taurine enhances alcohol intake and anxiolytic-like behaviors in alcoholic rats. In: 2nd Latin American Congress of Clinical and Laboratorial Toxicology (Toxi-Latin 2018), 2018, Porto Alegre, RS.

6. **BANDIERA, S.**; PULCINELLI, R. R.; Hansen A.W; PAULA, L. F.; NIEDIEDT, N. A.; Garofalo CB; BITENCOURT, P. E. R.; FONTELLA, F. U.; ALMEIDA, R. F.; GOMEZ, ROSANE. Combined use of alcohol and tobacco increases anxiety-like behaviors and glutamate levels in the liquor of rats. In: 2nd Latin American Congress of Clinical and Laboratorial Toxicology (Toxi-Latin 2018), 2018, Porto Alegre, RS.

7. **BANDIERA, S.**; CALETTI, G. ; PULCINELLI, R. R. ; Steffens L ; Herrmann AP ; Moura DJ ; BARRROS, H. M. T. ; GOMEZ, R. . Taurine counteracts the neurotoxic effects of chronic hyperglycemia in diabetic rats. In: 49th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics (SBFTE), 2017, Ribeirão Preto, SP.

8. GOMEZ, R.; QUINTEROS, D.; BELLAVER, B.; PULCINELLI, R. R.; **BANDIERA, S.**; BOBERMIN, L.; Hansen A.W; QUINCOZES-SANTOS, ANDRÉ. Combined use of alcohol and cigarette is more deleterious than either drug alone in the rat brain. In: Neuroscience, 2017, Washington, DC.

9. HANSEN A.W; QUINTEROS, D.; BELLAVER, B.; NIEDIEDT, N. A.; PAULA, L. F.; **BANDIERA, S.**; PULCINELLI, R. R.; QUINCOZES-SANTOS, A; GOMEZ, R. EFEITO DA ASSOCIAÇÃO DE ÁLCOOL E TABACO SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM DIFERENTES ÁREAS ENCEFÁLICAS DE RATO. In: VI Simpósio Internacional de Estresse Oxidativo e Doenças Cardiovasculares, 2017, Porto Alegre.

10. PULCINELLI, R. R.; NIEDIEDT, N. A.; PAULA, L. F.; **BANDIERA, S.**; HANSEN A.W; ALMEIDA, FELIPE BORGES; FONTELLA, F. U.; GOMEZ, R. Effect Of Repeated Taurine Administration On Voluntary Alcohol Consumption And On Behaviors In Rat. In: 49th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics (SBFTE), 2017, Ribeirão Preto, SP.

11. PAULA, L. F.; QUINTEROS, D.; **BANDIERA, S.**; HANSEN A.W; PULCINELLI, R. R.; BOBERMIN, L.; QUINCOZES-SANTOS, ANDRÉ; GOMEZ, R. Combined Use Of Alcohol And Cigarette Smoke Increases Pro- Inflammatory Cytokines And Decreases BDNF Levels In The Frontal Cortex Of Rats. In: 49th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics (SBFTE), 2017, Ribeirão Preto.

12. NIEDIEDT, N. A.; QUINTEROS, D.; Garofalo CB; PAULA, L. F.; **BANDIERA, S.**; PULCINELLI, R. R.; BELLAVER, BRUNA; QUINCOZES-SANTOS, ANDRÉ; GOMEZ, R. Effect Of The Combined Use Of Alcohol And Cigarette Smoke On Oxidative Stress Parameters In Different Brain Areas Of Rats. In: 49th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics (SBFTE), 2017, Ribeirão Preto, SP.

13. **BANDIERA, S.**; PULCINELLI, R. R.; GIUSTINA, C. L. D.; Hansen A.W; SOUZA, A.; CALETTI, G.; MEDEIROS, L. F.; TORRES, I. L. S.; GOMEZ, R. Efeito do Uso Combinado de Álcool e Tabaco Sobre Parâmetros Comportamentais e Neuroinflamatórios em Ratos. In: I Simpósio Gaúcho de Farmacologia, 2016, Porto Alegre.

14. PULCINELLI, R. R.; **BANDIERA, S.**; MALLET, E.; GIUSTINA, C. L. D.; GOMEZ, R. EFEITO DO ÓLEO DE COPAÍBA SOBRE O CONSUMO VOLUNTÁRIO DE ÁLCOOL EM RATOS. In: I Simpósio Gaúcho de Farmacologia, 2016, Porto Alegre

15. MALLET, E.; CALETTI, G.; **BANDIERA, S.**; SILVA, J.; GIUSTINA, C. L. D.; HANSEN A.W; GOMEZ, R. Efeitos antioxidantes e neuroprotetores da taurina no hipocampo de ratos diabéticos. In: I Simpósio Gaúcho de Farmacologia, 2016, Porto Alegre.

16. CALETTI, G.; **BANDIERA, S.**; HANSEN A.W; FREESE, L.; QUINTEROS, D.; PERES, V.; BARROS, H. M. T.; GOMEZ, R. Efeito do diabetes e da administração de taurina sobre o fluxo de GABA e Glutamato no hipocampo de ratos expostos ao teste de nado forçado. In: I Simpósio Gaúcho de Farmacologia, 2016, Porto Alegre.

17. **BANDIERA, S.**; PULCONELLI, R. R.; GIUSTINA, C. L. D.; Hansen A.W; CALETTI, G.; SOUZA, A.; MEDEIROS, L. F.; TORRES, I. L. S.; GOMEZ, R. Combined Use of Alcohol and Tobacco on Behavioral and Neuroinflammatory Parameters in Rats. In: 48th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics and the 21st Latin American Congress of Pharmacology, 2016, Foz do Iguaçu.

18. PULCINELLI, R. R.; **BANDIERA, S.**; SANTOS, P.; GIUSTINA, C. L. D.; GOMEZ, R. EFFECT OF COPAIBA OIL ON ALCOHOL VOLUNTARY INTAKE IN RATS. In: 48th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics and the 21st Latin American Congress of Pharmacology, 2016, Foz do Iguaçu.

19. CALETTI, G.; **BANDIERA, S.**; Hansen A.W; QUINTEROS, D.; HENN, J. G.; PERES, V.; BARROS, H. M. T.; GOMEZ, R. EFFECT OF DIABETES AND TAURINE ADMINISTRATION ON GABA AND GLUTAMATE EFFLUX IN THE HIPPOCAMPUS OF RATS EXPOSED TO THE FORCED SWIMMING TEST. In:

48th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics and the 21st Latin American Congress of Pharmacology, 2016, Foz do Iguaçu.

20. BARROS, H. M. T. ; CALETTI, G. ; **BANDIERA, S.** ; Hansen A.W ; MORAS, A. M. ; STEFFENS, L. ; GOMEZ, R. Taurine reduces oxidative stress and DNA damage in the frontal cortex and in the hippocampus of diabetic rats. In: Neuroscience 2016, San Diego.

21. ALMEIDA, F. B.; HANSEN A.W; CALETTI, G.; **BANDIERA, S.**; FREESE, L.; BARRROS, H. M. T.; GOMEZ, R. Taurine effects on behaviors and in  $\alpha 2$  GABAA receptor subunit or BDNF mRNA expression in the frontal cortex of chronically treated or alcohol-abstinent rats. In: Neuroscience 2016, 2016, San Diego.

22. GOMEZ, R. ; FREESE, L. ; CALETTI, G. ; **BANDIERA, S.** ; NIN, M. ; STEFFENS, L. ; STEINMETZ, A. ; D. J. MOURA ; BARROS, H. M. T. . Does the environmental enrichment change oxidative stress parameters in the hippocampus and frontal cortex of cocaine-conditioned rats? In: Neuroscience 2016, 2016, San Diego.

23. **BANDIERA, S.**; SCHNEIDER JUNIOR, R. ; Hansen A.W ; SANTOS, C. F. ; GUZZO, E. F. M. ; CALETTI, G. ; PULCONELLI, R. R. ; Fragoso ALR ; GOMEZ, R. . Álcool, fumaça de cigarro ou seu uso combinado provocam dano hepático e renal em ratos. In: XXX Reunião Anual da FeSBE, 2015, São Paulo.

24. HANSEN A.W; SCHNEIDER JUNIOR, R.; **BANDIERA, S.**; Petermann A.; CEZAR, I. D.; CALETTI, G.; ELIZABETSKY, E.; GOMEZ, R. N-ACETILCISTEÍNA PREVINE ANSIEDADE INDUZIDA POR ABSTINÊNCIA DE ÁLCOOL EM RATOS. In: XXX Reunião Anual da FeSBE 2015, 2015, São Paulo.

25. FRAGOSO ALR; **BANDIERA, S.**; SCHNEIDER JUNIOR, R.; Hansen A.W; CALETTI, G.; PULCONELLI, R. R.; SANTOS, C. F.; TORRES, I. L. S.; SOUZA, A.; GOMEZ, R. EFEITO DA EXPOSIÇÃO CRÔNICA AO ÁLCOOL, FUMAÇA DE CIGARRO OU SUA ASSOCIAÇÃO SOBRE MARCADORES

INFLAMATÓRIOS EM DIFERENTES ÁREAS ENCEFÁLICAS DE RATOS. In: XXX Reunião Anual da FeSBE 2015, 2015, São Paulo.

26. CALETTI, G.; SCHNEIDER JUNIOR, R.; **BANDIERA, S.**; MELO, T. L. B.; COSTA, P. A.; HANSEN A.W; PULCONELLI, R. R.; FRAGOSO ALR; BARROS, H. M. T.; GOMEZ, R. Taurina Reduz Glicemia de Ratos Diabéticos por mecanismos não relacionados ao GLP-1. In: XXX Reunião Anual da FeSBE 2015, 2015, São Paulo.

27. GUZZO, E. F. M.; GOMEZ, R.; SCHNEIDER JUNIOR, R.; **BANDIERA, S.**; COITINHO, A. S. Efeito da dexametasona sobre as crises convulsivas e os níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF- alfa) em ratos submetidos ao modelo de abrasamento (kindling) por pentilenotetrazol. In: 35ª Semana Científica do HCPA, 2015, Porto Alegre

28. SILVA, J.; SCHNEIDER, R.; SANTOS, C. F.; **BANDIERA, S.**; Hansen A.W; SOUZA, D. G.; BELLAVAR, B.; QUINCOZES-SANTOS, A; CALETTI, G.; ELIZABETSKY, E.; GOMEZ, R. N-acetylcysteine prevents alcohol cessation induced increases on THF-alfa in rat brain. In: 9th World Congress International Brain Research Organization - IBRO 2015, Rio de Janeiro.

29. GOMEZ, R. ; SCHNEIDER JUNIOR, R. ; **BANDIERA, S.** ; PULCINELLI, R. R. ; Hansen A.W ; CALETTI, G. ; ELIZABETSKY, E. . N-acetylcysteine prevents alcohol withdrawal-induced anxiety in rats. In: Neuroscience - SfN 2015, Chicago.

30. GUZZO, E. F. M.; GOMEZ, R.; SCHNEIDER JUNIOR, R.; **BANDIERA, S.**; COITINHO, A. S. Efeito da dexametasona sobre as crises convulsivas e os níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF- alfa) em ratos submetidos ao modelo de abrasamento (kindling) por pentilenotetrazol. In: 35ª Semana Científica do HCPA, 2015, Porto Alegre.

#### **4- Participação em eventos**

1. 2nd Latin American Congress of Clinical and Laboratorial Toxicology (Toxi-Latin 2018). 2018. (Congresso).
2. II Simpósio Gaúcho de Farmacologia. 2018. (Simpósio).
3. 49th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2017. (Congresso).
4. 48th Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics and the 21st Latin American Congress of Pharmacology. 2016. (Congresso).
5. I Simpósio Gaúcho de Farmacologia. 2016. (Simpósio).
6. XXX Reunião Anual da FeSBE 2015. 2015. (Congresso).

#### **5- Organização de eventos**

II Simpósio Gaúcho de Farmacologia. 2018.

#### **6- Prêmios**

- 1- Coautora de Pôster e Apresentação oral contemplados com Menção honrosa, II Simpósio Gaúcho de Farmacologia. 2018.
- 2- Coautora de Pôster e Apresentação oral contemplados com Destaque, VI Simpósio Internacional de Estresse Oxidativo e Doenças Cardiovasculares. 2017.
- 3- Autora de Pôster e Apresentação oral contemplado com Menção honrosa, I Simpósio Gaúcho de Farmacologia. 2016.
- 4- Coautora de Pôster e Apresentação oral contemplados com Menção honrosa, I Simpósio Gaúcho de Farmacologia. 2016.
- 5- Autora de Pôster e apresentação contemplado com menção honrosa, XXX Reunião Anual FeSBE 2015.



## **7- Orientações**

Co-orientadora de trabalho de conclusão de curso: EFEITO DO ÓLEO DE COPAÍBA SOBRE O CONSUMO VOLUNTÁRIO DE ÁLCOOL EM RATOS. Rianne Remus Pulcinelli. Curso (Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

## **8- Cursos Auxiliares**

Pós-graduação em docência do ensino superior – UNICESUMAR. Início 07/2018. Previsão de término em 01/2020.

**ANEXO B – PARECER DE PROJETO DE PESQUISA ENCAMINHADO AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:  
FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA  
Rua Sarmento Leite, 500/305 – Porto Alegre, RS

PARECER DE PROJETO DE PESQUISA DE DOUTORADO

**Aluno(a) de Doutorado:** Solange Bandiera

**Título do Projeto:** Efeito do álcool, fumaça de cigarro ou a sua associação sobre o sistema glutamatérgico em diferentes áreas encefálicas de ratos

**Orientador:** Profa. Rosane Gomez

O projeto referido acima foi analisado pela Comissão de Pós-Graduação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica.

Com base na avaliação, a Comissão de Pós-Graduação considera que o projeto tem mérito, e se enquadra no perfil do Programa, estando aprovado quanto aos aspectos científicos e éticos.

**Recomendação final:** Aprovação

Porto Alegre, 6 de agosto de 2015.

Profa. Ionara Rodrigues Siqueira  
Coordenadora

Coordenador  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciências Biológicas Farmacologia  
e Terapêutica  
ICBS/UFRGS

## ANEXO C – PARECER DE PROJETO DE PESQUISA ENCAMINHADO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS



**UFRGS**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão De Ética No Uso De Animais



### CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

**Número:** 29773

**Título:** EFEITO DO ALCOOL, FUMACA DE CIGARRO OU A SUA ASSOCIACAO SOBRE O SISTEMA GLUTAMATERGICO EM DIFERENTES AREAS ENCEFALICAS DE RATOS

**Vigência:** 05/01/2016 à 04/01/2019

**Pesquisadores:**

**Equipe UFRGS:**

ROSANE GOMEZ - coordenador desde 05/01/2016  
ADRIANE RIBEIRO ROSA - pesquisador desde 05/01/2016  
Ricardo Schneider Junior - Aluno de Doutorado desde 05/01/2016  
ANA LUIZA RODRIGUES FRAGOSO - Aluno de Especialização desde 05/01/2016  
RIANNE REMUS PULCINELLI - Aluno de Especialização desde 05/01/2016  
Alana Witt Hansen - Aluno de Doutorado desde 05/01/2016  
Solange Bandiera - Aluno de Doutorado desde 05/01/2016

**Equipe Externa:**

Greice Caletti - Aluno de Doutorado desde 05/01/2016

**Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 07/12/2015 - Sala 323 - Anexo I do Prédio da Reitoria- Campus Centro da UFRGS- Bairro Farroupilha - Porto Alegre - RS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 144 ratos machos, Wistar, adultos, provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório(CREAL), UFRGS, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.**

Porto Alegre, Segunda-Feira, 11 de Julho de 2016

MARCELO MELLER ALIEVI  
Coordenador da comissão de ética