



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

CLAUDIA DANIELE BIANCO

**MODELOS ANIMAIS DE EXPOSIÇÃO AO ÁLCOOL DURANTE O
DESENVOLVIMENTO:
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA**

**Florianópolis
2017**

Claudia Daniele Bianco

**MODELOS ANIMAIS DE EXPOSIÇÃO AO ÁLCOOL
DURANTE O DESENVOLVIMENTO:
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de
Curso apresentado à disciplina
BIO7016 como requisito parcial para a
obtenção do grau de Licenciado em
Ciências Biológicas pela Universidade
Federal de Santa Catarina.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patricia
de Souza Brocardo.

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bianco, Claudia Daniele

Modelos animais de exposição ao álcool durante o desenvolvimento : Uma revisão sistemática da Literatura / Claudia Daniele Bianco ; orientadora, Patricia de Souza Brocardo, 2017.

116 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Exposição ao álcool durante a gestação. 3. Espectro de desordens do alcoolismo fetal. 4. Modelos animais. 5. Revisão sistemática. I. Brocardo, Patricia de Souza. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Claudia Daniele Bianco

**MODELOS ANIMAIS DE EXPOSIÇÃO AO ÁLCOOL
DURANTE O DESENVOLVIMENTO:
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso – TCC - foi julgado adequado para obtenção do Título de “Licenciado em Ciências Biológicas” e aprovado em sua forma final pela Banca Examinadora.

Florianópolis, 22 de Junho de 2017.

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti
Coordenador do Curso de Ciências Biológicas

Banca Examinadora:

Patricia de Souza Brocardo
Prof.^a Dr.^a Patricia de Souza Brocardo
Universidade Federal de Santa Catarina
Orientadora

KR Souza
Prof.^a Dr.^a Kieiv Resende Sousa de Moura
Universidade Federal de Santa Catarina
Membro Titular

Patricia Acordi Cesconetto
Msc. Patricia Acordi Cesconetto
Universidade Federal de Santa Catarina
Membro Titular

Cristine de Paula Nascimento-Castro
Msc. Cristine de Paula Nascimento-Castro
Universidade Federal de Santa Catarina
Membro Suplente

Este trabalho é dedicado aos meus amados pais Celito e Nelci,
por todo esforço, carinho, dedicação e incentivo que
demonstraram por mim ao longo desta jornada.
Este título também é deles!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por toda inspiração e energias positivas. Eu acredito na possibilidade de fé e ciência caminharem juntas e concordo com Carl Sagan (1995) quando afirma que:

“A ciência não é só compatível com a espiritualidade; é uma profunda fonte de espiritualidade. Quando reconhecemos nosso lugar na imensidão de anos-luz e no transcorrer das eras, quando compreendemos a complexidade, a beleza e a sutileza da vida, então o sentimento sublime, misto de júbilo e humildade, é certamente espiritual. A noção de que a espiritualidade e a ciência são de alguma maneira mutuamente exclusivas presta um desserviço a ambas.”

Agradeço aos meus pais Celito e Nelci, que mesmo morando longe, sempre foram meu porto seguro, minha força, minha inspiração e principalmente o motivo pelo qual eu consegui me manter firme, superando os obstáculos, para completar esta etapa tão importante de minha vida e, tenho certeza, da vida deles também. Amor incondicional!

Um super agradecimento também aos meus amados irmãos Celito e Victor, minha linda sobrinha Larissa e minha cunhada Rosiane, por tantos sorrisos, brigas, coisas sérias e brincadeiras que já vivemos juntos e que fazem perceber o valor, o significado e a importância de se ter uma Família!

Ao meu namorado Francisco, pela amizade, parceria, viagens, conversas, discussões, aprendizagens, presença constante, comidas deliciosas, caronas surpresas e, principalmente, por aguentar minhas crises de histeria e ataques de ansiedade.

Muito obrigada professora Patricia! Uma orientadora perfeita, super profissional, carinhosa e firme ao mesmo tempo. Impossível não compará-la à figura materna, porque você se torna um pouco mãe de todas (os) nós! Sem palavras para agradecer o acolhimento e todos os ensinamentos.

À equipe LANEP: Ana, Tine, Evelini, Victor e Kátia. Muito obrigada por me receberem tão bem e por todos os momentos compartilhados, as reuniões, as refeições, os experimentos, os cuidados com os animais, os aprendizados coletivos. Vocês são demais!

Agradeço com muito carinho a todos os meus amigos da Biologia, juntos compartilhamos tantos momentos maravilhosos e outros nem tanto, seus rostinhos ficarão guardados para sempre comigo. Um agradecimento especial as grandes parceiras do final desta jornada: Nathália; Nicolle; Pâmela e Scheila. Obrigada meninas, pela parceria e cumplicidade!

Agradeço a todos os professores do curso de Ciências Biológicas que participaram neste caminho, com certeza terei sempre na lembrança os ensinamentos específicos da área e, principalmente, as dicas para a vida, todos foram muito importantes.

Por fim, agradeço a UFSC, pelos espaços físicos, possibilidades proporcionadas e auxílio financeiro.

“Claro que eles não são iguais a nós, e, às vezes resultados de experimentos em camundongos são radicalmente diferentes daqueles em seres humanos, mas são uma ferramenta de pesquisa muito útil e com frequência nos oferecem pistas cruciais. Sem modelos roedores, a ciência médica iria progredir a um milionésimo de sua velocidade. ”
(Alanna Collen, 2016)

“É dever dos pesquisadores que usam modelos animais, mais do que responder a uma pergunta científica, pensar na validade do experimento, e entender que seus trabalhos utilizam seres que possuem sensibilidade, sentem dor e medo também. ”
(Ekaterina A. B. Rivera, 2002)

“Não há diferenças fundamentais entre o homem e os animais nas suas faculdades mentais (...), os animais, como os homens, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento. ”
(Charles Darwin, 1871)

RESUMO

Introdução: A exposição pré-natal ao álcool (PAE, do inglês *prenatal alcohol exposure*) é reconhecida como a causa evitável mais comum de deficiência mental no mundo ocidental, podendo levar ao desenvolvimento do Espectro de Desordens do Alcoolismo Fetal (FASD, do inglês *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*), um termo abrangente que inclui uma gama de efeitos adversos no desenvolvimento do feto, incluindo deficiências no crescimento, malformações congênitas, distúrbios neuropsiquiátricos e perturbações mentais. O diagnóstico de FASD ainda é bastante complicado de ser realizado, muitas vezes as mães não admitem ou não se lembram dos hábitos durante a gestação, e, normalmente, os transtornos do desenvolvimento característicos de PAE só são percebidos mais tarde na vida, em geral quando as crianças já estão em idade escolar. Neste sentido o uso de modelos animais é particularmente importante porque possibilita controlar múltiplas variáveis, tais como o padrão de exposição ao álcool; o tempo de exposição durante o período de desenvolvimento cerebral em que ocorre a administração do álcool; a quantidade de álcool a que o feto está exposto; os níveis de estresse sofridos pela mãe durante o período de exposição e a restrição calórica que vem normalmente acompanhada com o consumo de álcool. **Objetivos:** Verificar quais são os modelos animais mais comumente utilizados nos estudos com FASD; analisar as possíveis vantagens e desvantagens de cada modelo animal para este tipo de pesquisa. **Metodologia:** Os dados foram coletados através de uma revisão sistemática da literatura dos artigos publicados nos últimos 15 anos e seguiu as recomendações do guia “Principais Itens para Relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises” (PRISMA). A busca nas bases de dados *Pubmed* e *Science Direct* foi realizada entre os dias 14 e 16 de Março de 2017. Na busca foram utilizados os seguintes termos/descriptores, em língua inglesa: *prenatal alcohol exposure*; *prenatal ethanol exposure*; *fetal alcohol exposure*; *fetal alcohol syndrome* e *fetal alcohol spectrum disorders*; combinados com o termo/descriptor *animal models* através do operador booleano “and”, no título e/ou resumo. **Resultados:** A busca resultou em 1.246 artigos, e após utilizar os critérios de inclusão e exclusão definidos previamente, foram selecionados e incluídos 107 artigos. Dentre os modelos animais utilizando roedores foram encontrados 75 trabalhos utilizando ratos, 24 utilizando camundongos e 8 utilizando cobaias. Dentre os períodos de administração, 7 trabalhos realizaram a exposição fetal ao álcool no 1º trimestre equivalente; 10 no

2º trimestre equivalente; 55 no 3º trimestre; 26 forneceram álcool ao longo dos dois primeiros trimestres (1º+2º) e 22 ao longo dos 3 trimestres equivalentes de forma contínua. Dentre as diferentes vias de administração, 5 pesquisas utilizaram o modelo de “água de beber”; 9 usaram “câmaras de inalação de vapor”; 5 pesquisas usaram o meio de criação artificial com implantação de cânula gástrica; 6 trabalhos utilizaram o paradigma de “consumo voluntário”; 11 usaram “dieta líquida”; 2 pesquisas mesclaram duas vias de administração no mesmo estudo; 12 artigos utilizaram injeção intraperitoneal e 5 usaram injeção subcutânea; 43 estudos administraram álcool por “intubação intragástrica”; 8 usaram o método de “administração oral” e apenas um usou o “paradigma das duas garrafas”. Dentre as 107 pesquisas analisadas nesta revisão sistemática, 32 utilizaram algum tipo de tratamento ou intervenção contra os efeitos do álcool. **Conclusão:** Cada modelo animal de PAE tem vantagens e desvantagens, o conhecimento de cada um destes modelos e a definição dos objetivos do estudo proposto devem ser previamente definidos para que o modelo mais adequado possa ser selecionado.

Palavras-chave: Exposição fetal ao álcool. FASD. Neurodesenvolvimento. Modelos animais. Revisão sistemática.

ABSTRACT

Introduction: Prenatal exposure to alcohol (PAE) is recognized as the most common avoidable cause of mental disability in the Western world, and may lead to the development of the Fetal Alcohol Disorder Spectrum (FASD), a comprehensive term that includes a range of adverse effects on fetal development, including growth deficiencies, congenital malformations, neuropsychiatric and mental disorders. The diagnosis of FASD is still quite complicated to achieve, mothers often do not or do not recall gestational habits, and usually, developmental disorders characteristic of ECPs are only noticed later in life, Children are already of school age. For this reason, the use of animal models to study FASD is particularly important because it allows controlling multiple variables, such as the pattern of exposure to alcohol; The time of exposure during the period of brain development in which the administration of alcohol occurs; The amount of alcohol to which the fetus is exposed; The stress levels experienced by the mother during the exposure period, and the calorie restriction that is usually accompanied by alcohol consumption.

Objectives: To verify which animal models are most commonly used in FASD studies and to analyze the possible advantages and disadvantages of each animal model for this type of research. **Methodology:** A systematic review of English-language articles published in the last 15 years was conducted by following the recommendations of the guide "Main Items for Reporting Systematic Reviews and Meta-analyzes" (PRISMA). A broad search of PubMed and Science direct was carried out from March 14 to 16, 2017. The following terms/descriptors were used in the search: *prenatal alcohol exposure*; *Prenatal ethanol exposure*; *Fetal alcohol exposure*; *Fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum disorders*; Combined with the term/descriptor animal models through the boolean operator "and" in the title and/or summary. **Results:** The search resulted in 1,246 articles, and after using previously defined inclusion and exclusion criteria, 107 articles were selected. Among the animal models using rodents were found 75 studies using rats, 24 using mice and 8 using guinea pigs. Among the administration periods, 7 studies used fetal exposure to alcohol in the 1st trimester; 10 in the 2nd trimester equivalent; 55 in the 3rd trimester; 26 provided alcohol during the first two trimesters (1st + 2nd) and 22 during the 3 consecutive trimesters equivalent. Among the different administration routes, 5 studies used the "drinking water" model; 9 used "vapor inhalation"; 5 studies used the "artificial rearing model"; 6 studies used the paradigm of "voluntary consumption"; 11 used "liquid diet"; 2 studies used two routes of administration in the same

study; 12 articles used intraperitoneal injection and 5 used subcutaneous injection; 43 studies administered alcohol for "intra-gastric intubation"; 8 used the "oral administration" method and only one study used the "two bottle paradigm". Of the 107 studies found in this systematic review, 32 used some type of treatment or intervention to counteract alcohol effects.

Conclusion: Each animal model of PAE has advantages and disadvantages and the knowledge of the pros and cons of each animal model and the clear definition of the objectives of the proposed study must be previously defined so that the most appropriate model is chosen.

Keywords: Fetal exposure to alcohol. FASD. Neurodevelopment. Animal models. Systematic review.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Características faciais da Síndrome Alcoólica Fetal (FAS)	26
Figura 2 - Fluxograma dos estudos incluídos na revisão sistemática	37
Figura 3 – Distribuição por espécies e quantidades dos roedores utilizados nas pesquisas	38
Figura 4 – Linhagens de ratos utilizados nas pesquisas	39
Figura 5 – Linhagens de camundongos utilizados nas pesquisas	39
Figura 6 – Distribuição dos estudos de acordo com o período de exposição ao álcool utilizado	41
Figura 7 – Tipos e quantidades dos modelos animais de exposição ao álcool durante o desenvolvimento	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando EtOH diluído na água de beber _____	44
Tabela 2 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando câmara de inalação de vapor _____	47
Tabela 3 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando consumo voluntário com acesso limitado _____	51
Tabela 4 - Modelo de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando criação artificial (inserção de tubo gástrico) _____	53
Tabela 5 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando dieta líquida _____	55
Tabela 6 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando intubação intragástrica _____	59
Tabela 7 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando administração oral _____	64
Tabela 8– Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando injeção intraperitoneal _____	68
Tabela 9 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando injeção subcutânea _____	71
Tabela 10 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando duas vias de administração _____	73
Tabela 11 - Grupos que testaram tratamentos e/ou intervenções _____	76
Tabela 12 - Vantagens e desvantagens dos diferentes modelos animais utilizando roedores para exposição de álcool durante o desenvolvimento _____	80
Tabela 13 - Vantagens e desvantagens das diferentes rotas de administração de álcool durante o desenvolvimento _____	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg – Micrograma por grama

3Rs – Substituição, Redução e Refinamento

ARBD – Defeitos congênitos relacionados com o álcool (do inglês *Alcohol-Related brain damage*)

ARND – Desordens neurológicas relacionadas com o álcool (do inglês *Alcohol-Related Neurodevelopmental Disorder*)

ATN – Núcleo talâmico anterior

BDNF – Fator neurotrófico derivado do encéfalo (do inglês *Brain-derived neurotrophic factor*)

CA – *Cornus Ammonis*

CAS – Concentração de álcool sanguíneo

CCpn – Neurônios de projeção do corpo caloso

CORT – Corticosterona

CPFE – Facilitação por pré-exposição de contexto

Cre-ERT2 – Cre recombinase induzida por tamoxifeno

DG – Dia gestacional

EA – Enriquecimento ambiental

EFV – Exercício físico voluntário

EtOH – Etanol

ex: Exemplo

FASD – Espectro de desordens do alcoolismo fetal (do inglês *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*)

g/kg – Gramas por quilograma

GD – Giro denteado

GFAP – Proteína ácida fibrilante glial

GPx – Glutathione peroxidase

GSH – Glutathione

HPA – Hipotálamo-pituitária-adrenal

Hz – Hertz

i.p. – Injeção intraperitoneal

IGF-I – Fator de crescimento semelhante a insulina

mg/dl – Miligramas por decilitro

mg/kg – Miligramas por quilograma

mPFC – Córtex pré-frontal medial

NMDAR1 – Receptor de N-metil-D-aspartato tipo 1

nNOS^{-/-} - Camundongos geneticamente deficientes para óxido nítrico sintase

OMG – Organização Mundial da Saúde

PAE – Exposição pré-natal ao álcool (do inglês *prenatal alcohol exposure*)

PML – Lóbulo paramediano do cerebelo

PND – Dia pós-natal (do inglês *postnatal day*)

PRISMA – Principais itens para relatar revisões sistemáticas e meta-análises

pSAF – Síndrome alcoólica fetal parcial

s.c. – Injeção Subcutânea

SAF – Síndrome alcoólica fetal

SMS2^{-/-} - Camundongos nocaute para esfingomielina sintase 2

SNC – Sistema nervoso central

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

U/kg – Unidade de massa atômica por quilograma

YFP – camundongos bitransgênicos que expressam uma proteína fluorescente amarela

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 O CONSUMO DE ÁLCOOL DURANTE A GRAVIDEZ	25
1.2 MODELOS ANIMAIS DE EXPOSIÇÃO AO ÁLCOOL	28
1.2.1 Como modelar FASD em roedores	29
1.2.2 Rotas de administração	30
1.2.2.1 Água de beber.....	30
1.2.2.2 Câmara de inalação de vapor.....	30
1.2.2.3 Consumo Voluntário	31
1.2.2.4 Criação Artificial.....	31
1.2.2.5 Dieta Líquida.....	31
1.2.2.6 Intubação Intragástrica	32
1.2.2.7 Administração Oral	32
1.2.2.8 Injeção Intraperitoneal ou Subcutânea	32
1.3 CONCENTRAÇÃO DE ÁLCOOL NO SANGUE.....	32
2 JUSTIFICATIVA DA PESQUISA	33
3 OBJETIVOS	34
3.1 OBJETIVO GERAL	34
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4 METODOLOGIA	35
4.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	35
4.2 CRITÉRIOS PARA ELEGIBILIDADE	35
4.3 SELEÇÃO DOS ESTUDOS E EXTRAÇÃO DOS DADOS	36
5 RESULTADOS	37
5.1 BUSCA NA LITERATURA.....	37
5.2 TIPO DE POPULAÇÃO.....	38
5.3 PERÍODOS DE ADMINISTRAÇÃO DO ÁLCOOL.....	40
5.4 ROTAS DE ADMINISTRAÇÃO DO ÁLCOOL	41
5.4.1 Água de Beber	43
5.4.2 Câmara de Inalação de Vapor	46
5.4.3 Consumo Voluntário	49
5.4.4 Criação Artificial	52
5.4.5 Dieta Líquida	54
5.4.6 Intubação Intragástrica	57
5.4.7 Administração Oral	63
5.4.8 Injeção Intraperitoneal	66
5.4.9 Injeção Subcutânea	70
5.4.10 Pesquisas que utilizaram duas rotas de administração	72
5.4.11 Pesquisas que utilizaram algum tratamento/intervenção	74

5.5 VANTAGENS E DESVANTAGENS DOS MODELOS ANIMAIS UTILIZANDO ROEDORES	80
5.6 VANTAGENS E DESVANTAGENS DAS DIFERENTES ROTAS DE ADMINISTRAÇÃO DE ÁLCOOL	81
6 DISCUSSÃO.....	82
6.1 MODELOS ANIMAIS UTILIZANDO ROEDORES	82
6.1.1 O uso de ratos como modelo animal para investigar os efeitos da exposição ao álcool durante o desenvolvimento	82
6.1.2 O uso de camundongos como modelo animal para investigar os efeitos da exposição ao álcool durante o desenvolvimento	83
6.1.3 O uso de cobaias como modelo animal para investigar os efeitos da exposição ao álcool durante o desenvolvimento	84
6.2 ROTAS DE ADMINISTRAÇÃO DE ÁLCOOL DURANTE O DESENVOLVIMENTO	84
6.2.1 Rota de administração de álcool que mimetizam a forma de consumo em humanos – por meio de ingestão.....	85
6.2.2 Rota de administração de álcool através de intubação intragástrica (gavagem).....	87
6.2.3 Rota de administração de álcool através de criação artificial com implantação de cânula gástrica.....	88
6.2.4 Rota de administração de álcool através de administração oral	
6.2.5 Rota de administração de álcool através de câmaras de inalação de vapor	89
6.2.6 Rota de administração de álcool através de injeção intraperitoneal ou subcutânea	89
7 CONCLUSÃO	91
REFERÊNCIAS.....	93

1 INTRODUÇÃO

1.1 O CONSUMO DE ÁLCOOL DURANTE A GRAVIDEZ

A produção e o consumo de bebidas alcoólicas, cujas moléculas ativas são denominadas etanol (EtOH), estão presentes na história da humanidade há milênios, podendo ser atribuídos a fins ritualísticos, religiosos, festivos, dentre outros aspectos culturais em diferentes populações (WHO, 2014). Calhoun e Warren (2007) apresentam em sua revisão, que a ingestão de álcool por mulheres gestantes e os potenciais defeitos congênitos resultantes deste comportamento são relatados desde a Roma Antiga, destacando que, embora a associação entre consumo de álcool materno e malformações na prole tenham sido publicados pela primeira vez em 1973 por Jones e Smith (JONES E SMITH, 1973), é encontrado em uma antiga crença greco romana que a intoxicação alcoólica no momento da procriação resulta no nascimento de uma criança danificada. Enfatizam ainda a seguinte frase de Aristóteles: “As mulheres tolas, embriagadas e despreocupadas, produzem, na maioria das vezes, filhos como elas, morosos e lânguidos”.

Por ser legalizado para consumo e comercialização, o álcool, juntamente com a nicotina, são as drogas de abuso mais utilizadas no mundo (DANI & HARRI, 2005). Segundo o Relatório Global sobre Álcool e Saúde, publicado em 2014 pela Organização Mundial da Saúde (OMG), estima-se que no Brasil o consumo total de álcool por ano por pessoa seja 8,7L, considerado superior à média mundial que fica em torno de 6,2 L. Dentre os homens o consumo fica em torno de 13,6L por ano e as mulheres bebem uma média de 4,2L anuais. O documento destaca ainda que as mulheres podem ser mais vulneráveis a determinados níveis e padrões de consumo de bebidas alcoólicas por questões hormonais, fisiológicas e metabólicas bastante específicas ao sexo feminino (MANCINELLI et al., 2006; WHO, 2014), sendo isto um grande problema de saúde pública, porque o uso de álcool entre o público feminino vem aumentando de forma constante e paralela ao desenvolvimento econômico e às mudanças dos papéis de gênero na sociedade, podendo levar a graves consequências, tanto para a bebedora quanto para filhos que foram expostos à bebida *in utero* (WHO, 2014).

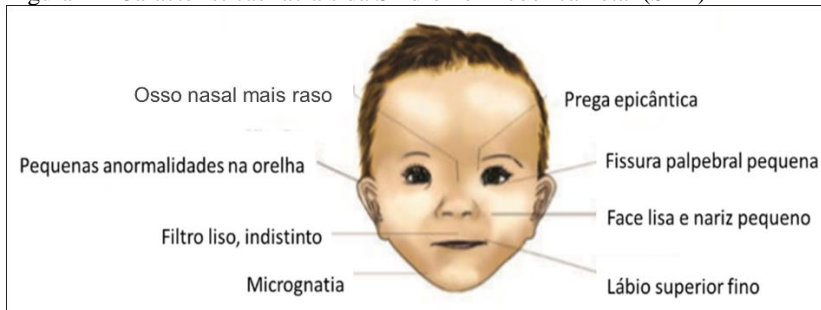
A exposição pré-natal ao álcool (PAE, do inglês *Prenatal Alcohol Exposure*) é reconhecida como a causa evitável mais comum de deficiência mental no mundo ocidental, podendo levar a uma gama de efeitos adversos no desenvolvimento do feto, incluindo deficiências no crescimento (altura e peso), malformações congênitas, distúrbios

neuropsiquiátricos e perturbações mentais (como deficiências neurocomportamentais e/ou de aprendizagem), suscetíveis de ter implicações ao longo da vida (POPOVA et al, 2013). O período de exposição, a dose consumida e a variabilidade genética podem refletir no quanto o etanol influencia no desenvolvimento fetal (DÖRRIE et al, 2014). Estas características levaram ao estabelecimento do termo Espectro de Desordens do Alcoolismo Fetal (FASD, do inglês *Fetal Alcohol Spectrum Disorders*) sendo adotado para qualquer alteração que resulte de PAE (JONES et al, 1973).

O termo FASD engloba crianças que apresentam diferentes graus de efeitos adversos resultantes do consumo de álcool durante a gestação, incluindo:

- Defeitos Congênitos Relacionados com o Álcool (ARBD, do inglês *Alcohol-Related Birth Defects*), que se caracteriza principalmente por malformações primeiramente físicas;
- Desordens Neurológicas Relacionadas com o Álcool (ARND, do inglês *Alcohol-Related Neurological Disorders*), abrangendo principalmente deficiências neurocomportamentais;
- Síndrome Alcoólica Fetal (SAF), considerada a mais grave manifestação de PAE e ocorrendo mediante consumo crônico de altas doses de álcool, tendo critérios diagnósticos específicos que incluem retardo no crescimento, dismorfologias faciais características (figura 1) e alterações no SNC como anormalidades neurológicas, atraso no desenvolvimento e deficiências intelectuais;
- Síndrome Alcoólica Fetal parcial (pSAF), que inclui algumas, mas não todas, as características diagnósticas de SAF (JONES E SMITH, 1973; JONES et al, 1973; HELLEMANS et al, 2010).

Figura 1 – Características faciais da Síndrome Alcoólica Fetal (SAF)



Fonte: Murawski et al, 2015. Adaptado para o português.

Muitos países não tem uma recomendação clara sobre a abstinência de álcool durante a gestação, podendo tornar essa informação confusa para as mulheres, as quais podem continuar “bebendo socialmente” durante a gestação (BROLESE et al., 2014). Pesquisas mostram que de 10 a 20% das mulheres grávidas na América do Norte consomem álcool no período de gravidez, 40% no Uruguai e mais de 50% em algumas partes da Itália (BROLESE et al., 2014). Estima-se que o uso de qualquer tipo de bebida alcoólica durante a gestação seja em torno de 12% (FLOYD et al., 2009) e que a incidência de FASD atinja cerca de 5% dos nascidos vivos por ano nos Estados Unidos (EUA) (MAY et al., 2009; CDC, 2014), e que sua forma mais grave (SAF) afete 1% deste total (CDC, 2014). No Brasil, estima-se que possam surgir entre 3.000 a 9.000 novos casos por ano de desordens relacionadas à exposição ao álcool ao longo do desenvolvimento, com prevalência de SAF atingindo em torno de 1:1000 nascidos vivos (GRINFELD et al., 1999), podendo estes dados estarem bastante subestimados, devido às dificuldades diagnósticas e a não informação, por parte das mães, do possível consumo neste período (GARCIA et al., 2007).

A exposição ao álcool durante o desenvolvimento tem demonstrado causar múltiplos efeitos dependentes da dose na estrutura e função do SNC (tanto em humanos quanto em modelos animais), sendo que a extensão do dano é dependente do padrão e da cronicidade da exposição, bem como dos estágios do desenvolvimento em que ocorre (RILEY & MCGEE, 2005). O momento de exposição ao etanol pode ser um fator determinante para a magnitude e gravidade dos sinais e sintomas observados em FASD (BROCARDI et al., 2017). Durante o primeiro trimestre da gestação humana, a exposição ao etanol pode modificar o desenvolvimento normal do tubo e da crista neural, levando a microcefalia (MILLER, 1996), malformações oculares (STROMLAND, 2004) e a dismorfologia facial característica de SAF (SULIK et al., 1981). Durante o segundo trimestre, afeta a proliferação de precursores neuronais e a formação de células gliais radiais, levando a uma migração neuronal anormal (ROBERTSON et al., 1993; ARONNE et al., 2011). Por fim, durante o terceiro trimestre, a exposição ao álcool pode aumentar a morte celular, comprometer a sinaptogênese e levar a déficits persistentes na plasticidade neuronal (MOULDER et al., 2002; ISAYAMA et al., 2009).

Pesquisas indicam que um padrão de consumo pesado, aqui denominado como “porre” ou “bebedeira” (5 ou mais doses em um único episódio), está associado ao desenvolvimento de SAF (CLARREN & SMITH, 1978; JONES & SMITH, 1973), enquanto outras mostram que

mesmo um consumo considerado moderado (1 a 2 doses por dia) está, em alguns indivíduos, associado a déficits cognitivos e comportamentais, frequentemente revelados apenas em condições estressantes ou desafiadoras (STREISSGUTH et al., 1999).

Ethen e colaboradores (2009) relataram que algumas mulheres grávidas se abstêm durante os dois primeiros trimestres da gravidez e começam a beber durante o terceiro trimestre, quando pode ser assumido de forma errônea que é seguro beber porque processos-chave de desenvolvimento estão completos. No entanto, os circuitos neuronais sofrem significativa diferenciação e refinamento durante este período, o que pode torná-los particularmente suscetíveis aos efeitos do álcool (BACULIS et al., 2015). Em pesquisas com animais, a exposição ao álcool de maneira restrita a algum dos períodos equivalentes ao desenvolvimento cerebral humano (1º, 2º ou 3º trimestre) mostrou ter consequências em longo prazo no cérebro adulto por desregulação do seu estado redox (BROCARDO et al, 2011). Mesmo um único episódio de exposição ao álcool, na janela temporal relacionada ao terceiro trimestre em humanos, com uma quantidade elevada de álcool (6 g/kg) leva a importantes perdas de células de Purkinje no cerebelo (LEE et al., 2008); e com uma quantidade de 4,4 g/kg, pode levar a importantes perdas neuronais e microcefalia em organismos geneticamente suscetíveis, neste caso camundongos nNOS^{-/-} (geneticamente deficientes para óxido nítrico sintase) (LICONA et al., 2009). Juntos estes dados suportam a afirmação de que não há um período seguro de consumir álcool durante a gestação e que mulheres grávidas devem se abster deste tipo de substância.

1.2 MODELOS ANIMAIS DE EXPOSIÇÃO AO ÁLCOOL

Segundo as normativas do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA, 2016), modelos animais possibilitam compreender mecanismos subjacentes a doenças, podendo ser utilizados na investigação da fisiologia celular, estruturas teciduais e orgânicas, bem como avaliar a integração de órgãos e sistemas com o organismo em questão ou outro com estrutura similar. O mesmo documento destaca ainda que estudos com necessidades de utilizar animais no período de reprodução/gestação visando determinar o potencial teratogênico de determinada substância, resultando em anomalias congênitas, sempre que possível devem optar por protocolos de uma geração com extensão de observações, no intuito de diminuir o número de animais incluídos nos estudos (aplicando o princípio da

Redução, incluído nos princípios dos 3Rs, do inglês *replacement, reduction, refinement*).

Diferente de pesquisas que observam transtornos com sintomas e condições patológicas bem definidas, FASD pode ser influenciado por muitos fatores como condições socioeconômicas, padrão e período de consumo do álcool, dieta materna, fatores genéticos, dentre outros (ETHEN et al., 2009; BROCARDO et al., 2011; PATTEN et al., 2014). Neste sentido o uso de modelos animais é particularmente importante porque possibilita controlar uma gama de múltiplas variáveis, tais como o padrão de exposição ao álcool (crônico, agudo ou compulsivo); o tempo de exposição durante o período de desenvolvimento cerebral em que ocorre a administração do álcool; a quantidade de álcool a que o feto está exposto; os níveis de estresse sofridos pela mãe durante o período de exposição e a restrição calórica que vem normalmente acompanhada com o consumo de álcool (BROCARDO et al., 2011).

1.2.1 Como modelar FASD em roedores

O grupo dos roedores compreendem os animais mais comumente utilizados nas pesquisas com FASD, pois são ideais para explorar questões de ciência básica relacionadas à biologia molecular, plasticidade sináptica, comportamento e cognição (GIL-MOHAPEL et al., 2010). Os roedores utilizados neste tipo de estudo costumam ser rato (*Rattus norvegicus*), camundongo (*Mus musculus*) e cobaia (*Cavia porcellus*) – popularmente conhecido como “porquinho-da-índia”. No entanto, o período gestacional destes animais é bem menor do que uma gravidez humana, sendo que em ratos e camundongos varia entre 18 e 23 dias, e em cobaias alcança 68 dias. Desta forma é relevante conhecer e considerar que uma quantidade importante do desenvolvimento cerebral destes organismos ocorre seguindo o nascimento (de particular interesse para pesquisas com ratos e camundongos). O desenvolvimento do cérebro nestes organismos pode ser dividido em frações equivalentes aos 3 trimestres da gestação humana. Em ratos e camundongos o período que corresponde ao 1º trimestre equivalente ocorre do dia gestacional (DG) 1 ao 10; o 2º trimestre equivalente compreende o DG 11 ao 20 e o 3º trimestre ocorre em período subsequente ao nascimento, do dia pós-natal (PND) 1 ao 10, e é nesse período que ocorre o pico de crescimento do cérebro. Já nas cobaias, os 3 trimestres equivalentes ocorrem todos no período gestacional, tornando o seu desenvolvimento cerebral mais equiparável com o desenvolvimento nos seres humanos (PATTEN et al., 2014).

Uma gama de fatores pode ser considerada para escolher um modelo de pesquisa em FASD utilizando roedores. É de suma importância conhecer e definir qual espécie e linhagem se enquadra melhor para responder à pergunta de pesquisa, e também estar ciente das condições de viabilidade ofertadas pelo laboratório/instituição em que será realizada a mesma (CONCEA, 2016). A partir disso, é preciso organizar um bom delineamento do protocolo experimental, considerando a rota de administração (câmara de inalação de vapor, consumo voluntário, diluição do álcool em uma dieta líquida ou na água de beber, intubação intragástrica, injeção intraperitoneal ou subcutânea, método de criação artificial com inserção cirúrgica de uma cânula gástrica); o tempo de exposição ao álcool (1 dia, 2 dias, 10 dias, etc); o período do desenvolvimento cerebral (1º, 2º ou 3º trimestre equivalente); os níveis de concentração de álcool sanguíneo (CAS); as doses de álcool utilizadas; e a maneira como foram organizados os grupos de animais controles (GIL-MOHAPPEL et al., 2010). A adequação de cada método é baseada no momento, dose e padrão de exposição ao álcool a ser modelado (BOSCHEN et al., 2015). Como foco de análise para a presente revisão sistemática, foram adotadas as rotas de administração, delineando dentro de cada rota utilizada o tempo e período da exposição ao álcool, os níveis de CAS, estruturas e comportamentos analisados, bem como, tratamentos ou intervenções nos casos em que se aplica essa observação.

1.2.2 Rotas de administração

1.2.2.1 Água de beber

Neste modelo, o grupo de fêmeas gestantes tratadas com álcool recebe *ad libitum* e como único fluido disponível para beber, uma solução de álcool misturada à água. Normalmente é disponibilizada água sem álcool por um curto período diário (em média 2 horas) para evitar desidratação. Como alimento os animais recebem ração padrão de biotério (EVRARD et al., 2003; BARBIER et al., 2009).

1.2.2.2 Câmara de inalação de vapor

Com este método de exposição as fêmeas gestantes e/ou filhotes neonatos, são colocados dentro de uma câmara com álcool em forma de vapor. Normalmente os animais ficam nesta condição por várias horas diárias (GRANATO et al., 2003; HEATON et al., 2003 a e b).

1.2.2.3 Consumo Voluntário

As fêmeas grávidas são primeiramente condicionadas a consumir uma solução palatável de água com sacarina, na qual o álcool vai sendo adicionado de forma progressiva ao longo de alguns dias, até alcançar o volume pretendido por cada experimento. Esta solução fica disponível, normalmente, por 4 horas diárias e os animais consomem por livre e espontânea vontade. Ração e água padrão ficam disponíveis *ad libitum* (HAMILTON et al., 2010; RICE et al., 2012).

Uma variação neste modelo pode ocorrer, denominada paradigma de duas garrafas, onde os indivíduos possuem dois dispositivos com líquido disponível *ad libitum*, sendo um apenas com água e outro com álcool diluído (BROLESE et al., 2014).

1.2.2.4 Criação Artificial

Esta via é utilizada apenas em filhotes no período neonatal inicial, equivalente ao 3º trimestre. Primeiramente os animais são anestesiados e uma cânula gástrica é implantada cirurgicamente no estômago, por onde será administrada, algumas vezes por dia, uma solução semelhante ao leite materno e, em uma ou duas destas vezes, a solução conterá etanol diluído. Os filhotes são separados de sua mãe e de sua ninhada e são alojados em um aparato semelhante a um copo, o qual se mantém aquecido e contém material de ninho, num esforço em mimetizar ao máximo o ambiente da gaiola e a interação com a mãe (ALLEN et al., 2009; PATTEN et al., 2014).

1.2.2.5 Dieta Líquida

Por esta rota, as fêmeas gestantes recebem como único alimento disponível e inserido de forma gradual ao longo de alguns dias, uma dieta líquida contendo álcool e formulada para promover uma nutrição adequada. Normalmente é fornecido ao longo de toda a gestação e, em muitos casos, também ao longo da lactação. O grupo tratado com álcool tem acesso livre à água (PATTEN et al., 2014; BODNAR et al., 2016).

1.2.2.6 Intubação Intragástrica

Por este método o álcool em solução é depositado diretamente no estômago, utilizando uma seringa com uma cânula de gavagem feita em aço, ou um tubo plástico, que é inserida através do esôfago até a entrada do estômago. Esta via pode ser utilizada tanto em fêmeas gestantes, quanto em filhotes (BROCARD et al., 2011; PATTEN et al., 2014).

1.2.2.7 Administração Oral

Este modelo é comumente utilizado por equipes que trabalham com cobaias. Uma solução de água com álcool diluído é depositada na cavidade bucal, seguida por deglutição. Ficam disponíveis ração e água padrão *ad libitum* (GREEN et al., 2005; DOBSON et al., 2012).

1.2.2.8 Injeção Intraperitoneal ou Subcutânea

A administração de álcool por meio de injeção intraperitoneal (i.p.) ou injeção subcutânea (s.c.) é frequentemente utilizada quando se quer observar resultados na exposição aguda ao etanol (ex: efeito de uma dose única em um período bem específico) (FIROZAN et al., 2014; DIAZ et al., 2016; HAMILTON et al., 2016).

1.3 CONCENTRAÇÃO DE ÁLCOOL NO SANGUE (CAS)

Nos Estados Unidos e no Canadá, indivíduos com nível de CAS de 80 mg/dl são considerados legalmente intoxicados; já no Brasil a lei é ainda mais restrita, considerando como intoxicação níveis de álcool sanguíneo a partir de 60 mg/dl (BRASIL, 2012; PATTEN et al., 2014).

De maneira geral, em estudos que relacionam consumo de álcool durante o desenvolvimento e consequências na prole, os níveis de CAS menores do que 100 mg/dl são considerados baixos; níveis entre 100 e 200 mg/dl são classificados como moderados e níveis acima de 200 mg/dl são considerados elevados. Neste sentido, pesquisadores que visam alcançar níveis de CAS de baixo a moderado utilizam rotas de administração como dieta líquida, consumo voluntário, câmara de inalação de vapor, dentre outros. Já estudos que visam alcançar CAS elevadas utilizam rotas de administração como intubação intragástrica ou injeções (PATTEN et al., 2014).

Ao modelar estudos de FASD em animais é muito importante considerar os níveis de álcool sanguíneos alcançados conforme a dose e

padrão de consumo. Isso porque existem diferenças metabólicas entre as espécies e, na maioria das vezes, a mesma dose de álcool resultará em maior ou menor CAS conforme o organismo e o padrão de consumo. Por exemplo, em pesquisas com ratos, a administração de álcool com dose de 4,5 g/kg/dia fornecida dentro do intervalo de tempo de 4 horas levou a CAS de 365 mg/dl; a mesma dose de álcool fornecida em um intervalo de tempo maior (8 horas) resultou em CAS de 195 mg/dl; já uma dose maior (6,6 g/kg/dia) mas distribuída ao longo de 24 horas levou a CAS menor, chegando a 45 mg/dl. Portanto, medidas de CAS podem ser mais confiáveis para relatar uma intoxicação, do que apenas saber a dose absoluta de etanol administrado (ex: g/kg) (MAIER et al., 2001; PATTEN et al., 2014).

2 JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

Mesmo existindo um número significativo de estudos sobre os riscos do consumo de álcool durante a gestação, sabe-se que uma parcela significativa das mulheres férteis e sexualmente ativas não se protege contra a concepção, resultando em gestações indesejadas/inesperadas com estimativa de que pelo menos 2% destas mulheres expõem seus fetos ao álcool sem estar ciente de sua gravidez (GRINFELD, 2009). Muitas vezes estas mães não admitem ou não lembram dos hábitos durante a gestação, o diagnóstico de FASD ainda é bastante complicado de ser realizado e, muitas vezes, os transtornos do desenvolvimento característicos de PAE só são percebidos mais tarde na vida, normalmente quando as crianças já estão em idade escolar (MAY et al., 2009). Neste sentido se torna complicado estudar FASD em humanos.

Portanto, é de suma importância conhecer mecanismos de estudos sobre este transtorno utilizando modelos animais, possibilitando assim, a busca por estratégias que visem mitigar ou reduzir as diferentes comorbidades envolvidas com FASD ao longo da vida do sujeito afetado, no intuito de melhorar sua qualidade de vida e convivência social.

Para tanto, conhecer os diferentes modelos, considerando suas vantagens, desvantagens e a melhor maneira de aplicabilidade de cada rota de administração são essenciais para responder à pergunta específica de cada pesquisa. Desta forma, justifica-se esta revisão sistemática como uma ferramenta de análise na escolha e decisão de qual modelo melhor se aplica em determinado estudo sobre a exposição ao álcool durante o período de desenvolvimento fetal.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um levantamento, por meio de Revisão Sistemática da Literatura, de todos os modelos animais utilizando roedores, no período que compreende os últimos 15 anos, em pesquisas que relacionam FASD com o SNC a nível morfológico, bioquímico e/ou comportamental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Verificar quais são os modelos animais mais comumente utilizados nos estudos com FASD;
2. Analisar as possíveis vantagens e desvantagens frente cada modelo animal para este tipo de pesquisa;
3. Concluir através da análise realizada qual (is) o melhor (es) modelos animais utilizando roedores para estudar FASD.

4 METODOLOGIA

Este estudo se trata de uma revisão sistemática da literatura, a qual se caracteriza pela formulação de uma pergunta clara, que utiliza métodos sistemáticos e explícitos para identificar, selecionar e avaliar criticamente pesquisas relevantes, coletando e analisando dados dos estudos incluídos na revisão (MOHER et al., 2009).

Esta revisão sistemática seguiu as recomendações propostas pelo guia denominado “Principais Itens para Relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises” (PRISMA, do inglês *Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*), descrito em detalhes por Moher e colaboradores (2009).

4.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA

A pesquisa foi realizada nas bases de dados Pubmed e Science Direct. Na busca foram utilizados os seguintes termos/descriptores, em língua inglesa: *prenatal alcohol exposure; prenatal ethanol exposure; fetal alcohol exposure; fetal alcohol syndrome e fetal alcohol spectrum disorders*; combinados com o termo/descriptor *animal models* através do operador booleano “and”, no título e/ou resumo.

4.2 CRITÉRIOS PARA ELEGIBILIDADE

Para tal, foram considerados os seguintes critérios de inclusão:

- a) Período de publicação – trabalhos publicados nos últimos 15 anos, ou seja, entre 2002 e 2017;
- b) Eleger materiais apenas em língua inglesa;
- c) Tipo de estudo – selecionar apenas estudos primários;
- d) Tipo de população – roedores;
- e) Tipo de resultados - filtrar apenas os artigos que mensuraram a CAS;
- f) Tipo de estruturas analisadas: selecionar somente estudos que avaliaram a relação de PAE com o SNC a nível morfológico, bioquímico e/ou comportamental.

Estudos que utilizaram outros animais (não roedores), que não avaliaram os níveis sanguíneos de álcool, estudos apenas genéticos ou epigenéticos, pesquisas que utilizaram somente análises *in vitro*, trabalhos que focaram em estruturas que não fazem parte do SNC, escritos em idioma diferente do inglês, com data anterior ao ano de 2002, artigos de meta-análise, revisão sistemática, revisão de literatura, trabalhos de

conclusão de curso, dissertações, teses e resumos de anais, não foram incluídos.

4.3 SELEÇÃO DOS ESTUDOS E EXTRAÇÃO DOS DADOS

A seleção dos artigos após a busca nas bases de dados se deu em três etapas:

1ª etapa – leitura dos títulos;

2ª etapa – leitura dos resumos e metodologias dos artigos selecionados na primeira etapa;

3ª etapa – análise dos artigos na íntegra, com extração dos dados de interesse, dos artigos selecionados na segunda etapa.

Após a seleção e inclusão dos estudos, foram extraídos e analisados os seguintes aspectos:

- a) Autores e ano de publicação;
- b) Espécie e/ou linhagem de roedor utilizada;
- c) Tempo de exposição ao álcool relacionando ao período de desenvolvimento da prole;
- d) Dose de álcool utilizada;
- e) Via de administração do álcool;
- f) Níveis de CAS;
- g) Estruturas e/ou comportamentos analisados na prole;
- h) Tipo de tratamento testado (nos estudos que avaliaram este quesito);
- i) Principais achados de cada pesquisa.

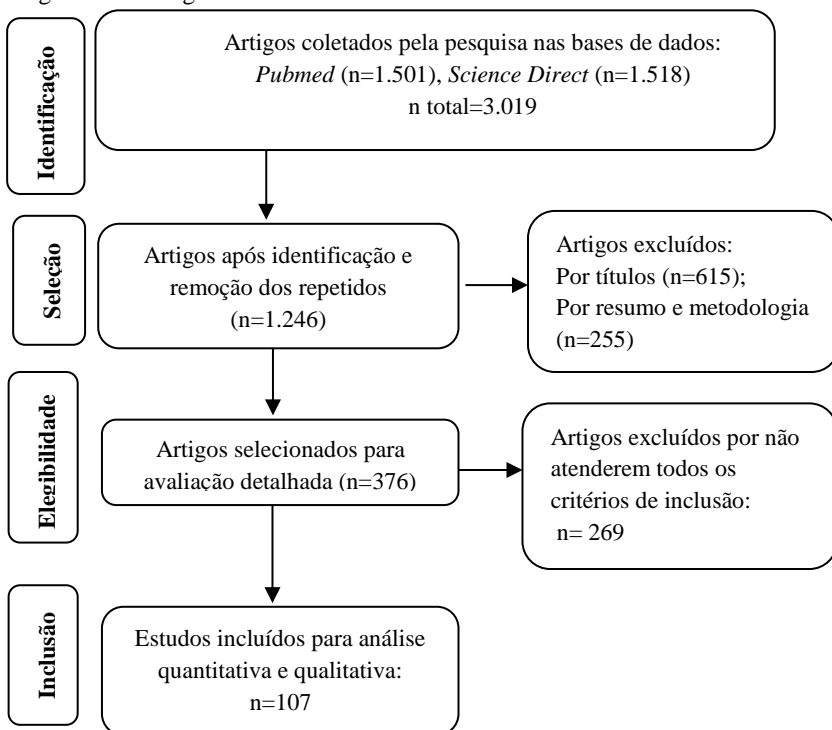
A busca nas bases de dados foi realizada entre os dias 14 e 16 de Março de 2017.

5 RESULTADOS

5.1 BUSCA NA LITERATURA

A busca nas bases de dados resultou na identificação de 3.019 artigos. Excluindo-se 1773 publicações repetidas, restaram 1.246 para leitura. Deste total, 615 foram excluídos por título e 255 foram excluídos por resumo e metodologia, restando 376 para uma análise mais detalhada. Na sequência, 269 artigos foram excluídos após a análise detalhada por não se enquadrarem nos critérios de inclusão e 107 artigos foram finalmente incluídos nesta revisão sistemática, como mostra a figura 2.

Figura 2 - Fluxograma dos estudos incluídos na revisão sistemática

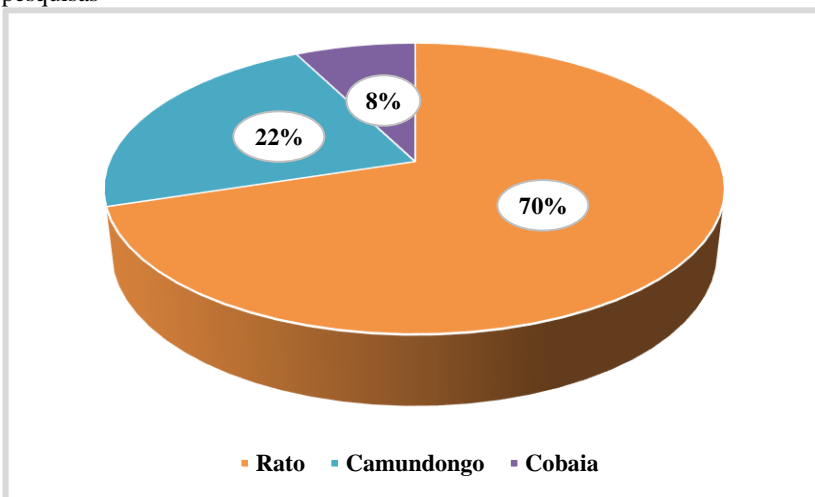


Fonte: Produção da própria autora

5.2 TIPO DE POPULAÇÃO

Com relação ao tipo de população analisada, foram selecionados artigos que trabalharam apenas com roedores, dentre os quais foi possível diferenciar em 3 espécies: Rato (*Rattus norvegicus*), Camundongo (*Mus musculus*) e Cobaia (*Cavia porcellus*). Dos estudos analisados, 75 trabalharam com ratos (70%), 24 com camundongos (22%) e 8 com cobaias (8%) (Figura 3).

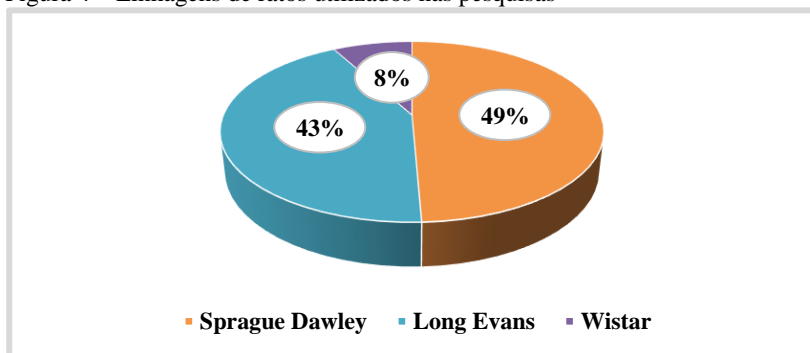
Figura 3 – Distribuição por espécies e quantidades dos roedores utilizados nas pesquisas



Fonte: Produção da própria autora

Dentre estes diferentes grupos de roedores, ainda é possível diferenciá-los conforme a linhagem ou variedade existente em uma mesma espécie, bem como, algumas alterações genéticas dependendo do tipo de estudo. Nesta busca foram compreendidas 3 linhagens de ratos, 3 de camundongos (incluindo um grupo caracterizado nesta revisão como geneticamente modificado sem definir qual foi a mudança), e apenas uma linhagem de cobaia. Conforme apresentado na figura 4, dentre os ratos encontramos 37 estudos com a linhagem Sprague Dawley (49%), 32 com a linhagem Long Evans (43%) e 6 com a linhagem Wistar (8%).

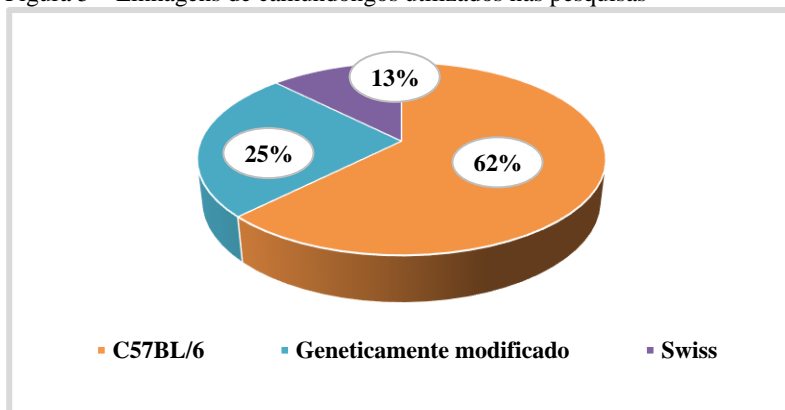
Figura 4 – Linhagens de ratos utilizados nas pesquisas



Fonte: Produção da própria autora

Dentre os camundongos, foram rastreados 15 da linhagem C57BL/6 (62%), 6 geneticamente modificados (25%) e 3 da linhagem *Swiss* (13%) (Figura 5). As cobaias não apresentaram variação, sendo que todos os 8 trabalhos usaram a linhagem Durkin Hartley.

Figura 5 – Linhagens de camundongos utilizados nas pesquisas



Fonte: Produção da própria autora

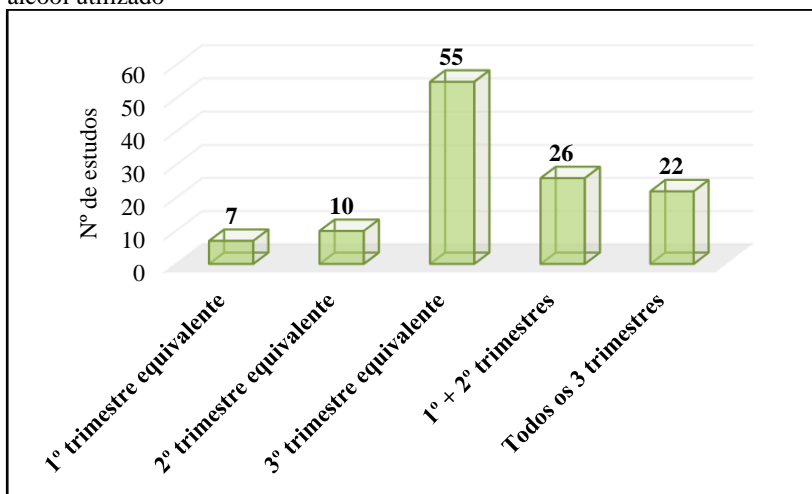
5.3 PERÍODOS DE ADMINISTRAÇÃO DO ÁLCOOL

O período em que ocorre a exposição fetal ao álcool é um importante fator nos resultados que serão observados na prole ao longo do seu desenvolvimento posterior. Nos modelos animais analisados foram visualizados, de maneira mais ampla, 5 distintos períodos de exposição podendo ocorrer apenas no período equivalente ao primeiro trimestre da gestação humana; apenas no segundo trimestre equivalente; apenas no terceiro trimestre equivalente; nos dois primeiros trimestres juntos ou nos três trimestres inteiros, o que corresponde a toda a gestação.

Com ênfase para este resultado, destaca-se que muitos autores utilizaram mais de um período de exposição ao álcool, portanto os valores apresentados correspondem às quantidades de vezes em que estes foram utilizados. Dentre os períodos de administração resgatados da análise dos dados, 7 trabalhos realizaram a exposição fetal ao álcool no 1º trimestre equivalente; 10 no 2º trimestre equivalente; 55 administraram álcool no período correspondente ao 3º trimestre em humanos; 26 forneceram álcool ao longo dos dois primeiros trimestres (1º+2º) e 22 estudos trataram os animais com álcool ao longo dos 3 trimestres equivalentes de forma contínua (Figura 6).

É importante destacar que os tempos de exposição dentro de cada período podem variar conforme a pergunta específica de cada projeto. Neste sentido, muitos autores descrevem a exposição ao álcool em um momento bem específico dentro de uma janela temporal correspondente a algum dos trimestres equivalentes, por exemplo: Firozan e colaboradores (2014) administraram álcool em ratos apenas no PND 4 (compreendido no 3º trimestre equivalente), visando observar este período específico do desenvolvimento com foco nas células do cerebelo. Os demais pesquisadores que trabalharam com tempos pontuais serão comentados em maiores detalhes ao longo do texto, nos subtópicos direcionadas para cada rota de administração.

Figura 6 – Distribuição dos estudos de acordo com o período de exposição ao álcool utilizado



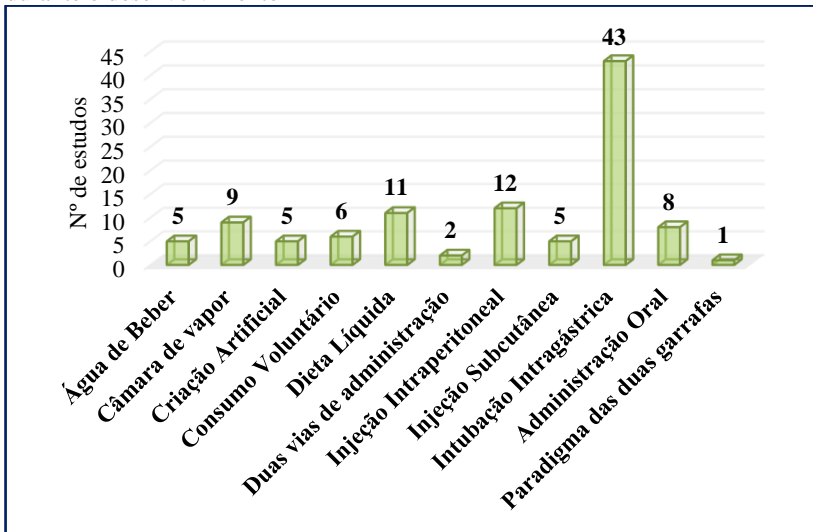
Fonte: Produção da própria autora

5.4 ROTAS DE ADMINISTRAÇÃO DO ÁLCOOL

Dentre as diferentes vias de administração, 5 pesquisas utilizaram álcool em solução na “água de beber” como único fluido disponível; 9 colocaram os animais em “câmaras de inalação de vapor” com álcool diluído; 5 pesquisas usaram o meio de criação artificial com implantação de cânula gástrica para alimentação dos filhotes; 6 trabalhos ofereceram a solução de água com álcool, por quatro horas diárias, em uma garrafa paralela à água normal ficando a critério do animal beber o líquido ou não, denominado de “consumo voluntário”; 11 usaram “dieta líquida” com álcool diluído em solução nutricional, substituindo a ração padrão; 2 pesquisas mesclaram duas vias de administração no mesmo estudo (dieta líquida para fêmeas gestantes e intubação intragástrica para filhotes ou intubação intragástrica para as fêmeas gestantes e criação artificial com os filhotes); 12 artigos utilizaram injeção intraperitoneal e 5 usaram injeção subcutânea; 43 estudos administraram álcool por “intubação intragástrica”; 8 forneceram o álcool através do uso de uma seringa diretamente na cavidade oral, seguida de deglutição, método denominado “administração oral” e apenas um estudo relatou usar o “paradigma das duas garrafas” onde disponibilizou uma garrafa com água normal e outra com solução de álcool ao longo de todo período de exposição.

Na figura 7, podem ser observados os 11 diferentes tipos de modelos utilizados para administração de álcool ao longo do desenvolvimento da prole, bem como a distribuição de cada modelo dentre os dados extraídos dos 107 artigos incluídos nos estudos.

Figura 7 – Tipos e quantidades dos modelos animais de exposição ao álcool durante o desenvolvimento



Fonte: Produção da própria autora

Na sequência, será explorada a compilação dos dados extraídos das pesquisas, limitando-se a cada modelo de rota de administração. Estes resultados estão sumarizados em forma de tabelas para facilitar a visualização dos achados.

5.4.1 Água de Beber

Apenas cinco estudos foram incluídos nas pesquisas que utilizaram como modelo de exposição ao álcool a rota de administração “Água de Beber”.

Os níveis de CAS ficaram entre 19 e 162 mg/dl. Essa diferença se explica, em parte, porque os cinco grupos de pesquisadores usaram porcentagens bastante diferentes de EtOH em sua diluição (Abbott et al., 2007 - 25%; Barbier et al., 2009 - 10%; Evrard et al., 2003 - 6,6%; Fiore et al., 2009 e Marche et al., 2011 - 11%).

Dois destes trabalhos utilizaram ratos e forneceram álcool ao longo dos 3 trimestres equivalentes e um testou PAE em camundongos, ofertando álcool apenas nos dois primeiros trimestres.

A região cerebral com maior número de análises foi o hipocampo (3), seguido do córtex cerebral (2), corpo caloso (1) e núcleo geniculado lateral (1). Sendo que dois estudos fizeram ensaios bioquímicos e um realizou medidas anatômicas. Os resultados mostram que a exposição ao álcool durante o desenvolvimento pode aumentar a espessura cortical, reduzir o tamanho do corpo caloso, diminuir o número dos transportadores de dopamina (BARBIER et al., 2009; ABBOTT et al., 2017), dentre outros.

Apenas dois trabalhos analisaram respostas comportamentais, observando aumento no comportamento tipo-ansioso; déficits na função motora e sensibilização aumentada ao consumo de álcool e outras drogas ao longo da vida dos animais expostos ao álcool durante o desenvolvimento.

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 1.

Tabela 1– Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando EtOH diluído na água de beber – Continua

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Alcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Abbott et al., 2017	Camundongo Swiss CD-1 (25% EtOH)	DG 1-20	PND 0; 20; 50	104,4	Corpo Caloso; Córtex; dLGN ; Hipocampo	↑ espessura de todas as regiões corticais (exceto V1) em PND 20; ↓dLGN ↓ região CA3 do hipocampo ao nascimento; ↑ região CA3 do hipocampo após o desmame; ↓ Corpo Caloso (PND 0-20)	↑ ansiedade; ↑ déficits na função motora
Barbier et al., 2009	Ratos Long Evans (10% EtOH)	Todos os 3 trimestres equivalentes	2 e 3 meses de idade	Gestação: 124,8 Lactação: 161,6	Estriado; Hipocampo	↓ DAT (estriado) ↓ NMDAR (hipocampo)	↑ consumo de etanol na vida adulta; ↓ sensibilidade ao efeito sedativo do EtOH; ↓ respostas locomotoras aos psicoestimulantes; ↑ resposta locomotora ao EtOH; ↑ sensibilização à cocaína em ambos os sexos; ↑ sensibilização à metanfetamina em fêmeas
Evrard et al., 2003	Ratos Wistar (6,6% EtOH)	Todos os 3 trimestres equivalentes	PND 21	19,0	Córtex Frontal; Estriado; Hipocampo	↑ TPH-IR no DRN e no MRN; ↑ 5HT-IR no MRN; ↑ 5-HTT-IR e Nf-200-IR dos astrócitos nas 3 áreas do prosencéfalo; ↓ GFAP-IR dos astrócitos no Hipp. e FCx; ↑ expressão de Nf-200 no Hipp e Strt; ↑ ROD de nNOS-IR em Strt e FCx	Não se aplica

Legenda: CA, *Cornus Ammonis*; DAT, transportador de dopamina; DG, dia gestacional; dLGN, núcleo geniculado lateral dorsal; DRN, núcleo da rafe normal; EtOH, etanol; FCx, córtex frontal; GFAP-IR, imunorreatividade contra a proteína ácida fibrilar glial; Hipp, hipocampo; Nf-200-IR, imunoreatividade contra os neurofilamentos 200-kDa; NMDAR, receptor de N-metil-D-aspartato; MRN, núcleo da rafe médio; nNOS, síntese de óxido nítrico; PND, dia pós-natal; ROD, densidade óptica relativa; Strt, estriado; TPH-IR, imunorreatividade contra triptofano hidroxilase; 5HT-IR, imunorreatividade contra serotonina; 5HTT-IRR, imunorreatividade contra as fibras de transportador de serotina.

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 1 – Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando EtOH diluído na água de beber - Conclusão

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Alcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Fiore et al., 2009	Camundongos CD-1 (11% EtOH ou 11% vinho tinto)	Todos os 3 trimestres equivalentes e durante toda a lactação	PND 7; 22; 30; 90	Mães: 133,43 Filhotes: 11,93	Cerebelo; Córtex; Hipocampo	G EtOH vs G RW: ↓ NGF e BDNF no hipocampo no PND 7; ↓ NGF No córtex; ↓ BDNF no cerebelo; ↓ crescimento neurítico induzido por NGF em células PC-12; G EtOH vs GC: ↓ células positivas ChAT no septo e núcleo basal Meynert	↓ latência e ↑ o n° de tentativas para os critérios de aprendizagem nos PNDs 20 e 90 comparando com GC; ↑ SAP no teste do labirinto em T elevado comparando com GS
Marche et al., 2011	Ratos Wistar (11% EtOH)	Todos os 3 trimestres equivalentes (durante toda a lactação)	3; 5; 10 semanas	28-142	Não se aplica	Não se aplica	↑ perturbação pós-desmame da atividade locomotora; ↓ atividade na 3ª e 10ª semana pós-natal; ↑ atividade na 5ª semana pós-natal com deficiências comportamentais sugerindo déficit de atenção

Legenda: BDNF, fator neurotrófico derivado do encéfalo; ChAT, colina-acetiltransferase; EtOH, etanol; GC, grupo controle; G EtOH, grupo etanol; G RW, grupo vinho tinto; GS, grupo sucrose; NGF, fator de crescimento do nervo; PND, dia pós-natal; Respect., respectivamente; SAP, postura esticada.

Fonte – Produção da própria autora

5.4.2 Câmara de Inalação de Vapor

Nove estudos utilizaram esta via de administração, sendo que apenas um grupo de pesquisa usou camundongos como os animais testados (NIRGUDKAR et al., 2016), o restante dos grupos trabalhou com ratos.

Os níveis de CAS também foram bastante variáveis, ficando entre 80 e 400 mg/dl.

Apenas Nirgudkar e colaboradores administraram o álcool no período pré-natal (DG 12-19, segundo trimestre equivalente) somada a uma parte do período pós-natal (PND 2-9, terceiro trimestre equivalente). Os outros pesquisadores utilizaram a janela temporal equivalente ao terceiro trimestre, variando nos dias de aplicação. Baculis e colaboradores (2015) e Welch e colaboradores (2016) propuseram a exposição ao álcool por 3 dias consecutivos (PND 3-5); Granato & Pelt (2003) forneceram por 5 dias (PND 2-6); Heaton e equipe (2002, 2003 a e b) juntamente com Siler-Marsiglio e equipe (2005) focaram em uma única exposição com variabilidade nos dias em que ocorreu a exposição ao álcool (PND 3; 4; 7; 14 e 21) e, por fim, Joshi e equipe (2006) exploraram a exposição ao álcool em um único dia do período pós-natal (PND 7).

Nestes trabalhos foram analisadas as seguintes estruturas: cerebelo, córtex, estriado e amígdala; dos quais 8 trabalhos fizeram ensaios bioquímicos e dois destes realizaram contagem de células, resultando, dentre outros aspectos, em perdas neuronais no cerebelo, redução no comprimento e ramificação dendrítica na região cortical, aumento na transmissão glutamatérgica na amígdala, aumento de proteínas pró-apoptose em diferentes estruturas e micro hemorragias em várias regiões cerebrais (GRANATO & PELT, 2003; BACULIS et al., 2015; NIRGUDKAR et al., 2016; WELCH et al., 2016).

Apenas duas destas pesquisas avaliaram o comportamento, sendo que uma observou aumento na ansiedade e outra encontrou déficits na função motora em animais expostos ao álcool durante o desenvolvimento (BACULIS et al., 2015; WELCH et al., 2016).

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 2.

Tabela 2 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando câmara de inalação de vapor - Continua

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Baculis et al., 2015	Ratos Sprague-Dawley (7,8 g/dl de EtOH dissolvido)	PND 3-5	PND 36-50	80	Complexo Basolateral da Amígdala	↑ transmissão glutamatérgica	↑ comportamento tipo-ansioso
Granato & Pelt, 2003	Ratos Wistar (EtOH 95%)	PND 2-6	PND 90	249,9	Córtex (neurônios piramidais camada 2/3)	↓ comprimento dendrítico; ↓ nº de segmentos terminais por árvore dendrítica; ↓ taxa de ramificação da linha de base dos neuritos excedentes	Não se aplica
Joshi et al., 2006	Ratos Sprague-Dawley (EtOH 95%)	PND 7 (3h ou 5h)	PND 7	183 384	Cerebelo	3h de exposição: ↓ neuritos; ↓ ativação de Rac1; 5h de exposição: ↑ apoptose; ↓ Rac1; ↑ RhoA	Não se aplica

Legenda: EtOH, etanol; PND, dia pós-natal; Rac1 e RhoA, proteínas G da família Rho (reguladores de formação de neuritos)

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 2 – Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando câmara de inalação de vapor – Conclusão

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Heaton et al., 2002; 2003 (a) (b) Siler-Marsiglio et al., 2005	Ratos Long-Evans (EtOH 95%)	PND 3; 4; 7; 14; 21	PND 3; 4; 5; 7; 8; 14; 15; 21	274-288	Cerebelo; Córtex; Estriado	Cerebelo: ↑ Bax e Bcl-2 associado à mitocôndria no PND 4; ↑ Bax-p21 citosólico no PND 4, no tempo 0h; ↑ Bcl-xL associado à mitocôndria no PND 7; ↑ Bax-p18 citosólico no PND 4 e 7, no tempo 0h; ↑ Bcl-2 no PND 4, no tempo 0h; ↓ Bcl-2 no PND 7, no tempo 0h; ↓ Bcl-xL no PND 4 e 7, no tempo 0h; ↑ Bcl-xL no PND 4, no tempo 2h ↑ ROS no PND 14; Córtex: ↑ BDNF, Bcl-2, Bcl-xL, SOD e CAT no PND 7; ↓ NTF no PND 7; ↑ NGF e NT-4, Bcl-2, Bcl-xL, pAkt, SOD e CAT no PND 21; ↓ Bcl-xs e Bax no PND 21; Estriado: ↑ SOD e pJNK no PND 3; ↓ CAT, NT-4 e pAkt no PND 3; ↓ NGF no PND 3 e 14; ↑ peróxidos no PND 4; ↑ NTF no PND 4; ↑ BDNF no PND 14; ↑ Bax no PND 14; ↑ NT-3 no PND 15; ↓ Bcl-2 e pAKT no PND 15	Não se aplica
Welch et al., 2016	Ratos Sprague Dawley (8 g/dl ou 3 g/dl de EtOH dissolvido)	PND 3-5	PND 4-8; 9; 16; 48; 71	400 86	Cérebro	↑ micro hemorragias no córtex, hipotálamo, mesencéfalo, tubérculo olfatório e estriado; ↑ perda neuronal; ↑ reatividade astrogliócita; ↑ ativação microglial	↑ déficits na função motora durante a adolescência e fase de adulto jovem
Nirgudkar et al., 2016	Camundongos VGAT-Venus -/- (3 a 8 g/dl de EtOH dissolvido, com aumento gradativo)	DG 12-19 PND 2-9	PND 16	Fêmeas: 100 mg/dl Filhotes: 330 mg/dl	Cerebelo	↓ nº de neurônios nas camadas de células moleculares e granulares do lóbulo II no vermis cerebelar; ↓ nº de células de Purkinje nos lóbulos II, IV-V e IX; ↓ volume dos lóbulos II, IV-V, VI-VII, IX e X	Não se aplica

Legenda: BDNF, fator neurotrófico derivado do encéfalo; CAT, catalase (antioxidante endógeno); DG, dia gestacional; EtOH, etanol; pJNK, JNK fosforilado; PND, dia pós-natal; JNK, quinase c-jun N-terminal; JNK, Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-xs, Bax, Akt (proteínas relacionadas à apoptose); NGF, fator de crescimento do nervo; NTF, fator neurotrófico; NT-3, neurotrofina-3; NT-4, neurotrofina-4; pAkt, Akt fosforilada; ROS, espécies reativas de oxigênio; SOD, superóxido dismutase; VGAT-Venus-/-, camundongo transgênico expressando a proteína fluorescente Venus nos neurônios.

Fonte – Produção da própria autora

5.4.3 Consumo Voluntário

Todos os trabalhos relatados aqui disponibilizaram a solução alcoólica às fêmeas gestantes ao longo de todo o período gestacional (1º e 2º trimestres equivalentes) e disponibilizaram ração e água padrão durante todo o período experimental. Sendo assim, o consumo da solução alcoólica se deu de forma espontânea por parte dos animais e não houve um controle específico de dose para cada indivíduo. Brolese e colaboradores (2014) utilizaram o paradigma das duas garrafas e disponibilizaram a garrafa contendo solução de álcool ao longo de todo o dia, o restante dos pesquisadores forneceram a solução alcoólica por algumas horas diárias.

Um total de sete estudos utilizou esta via de administração, sendo que dois grupos de pesquisa usaram camundongos como os animais testados, dos quais, Kajimoto e colaboradores (2013) usaram camundongos bitransgênicos nestin-CreE-ERT2/YFP que expressam uma proteína fluorescente amarela (YFP) no locus Rosa 26 e uma Cre recombinase induzida por Tamoxifeno (Cre-ERT2) sob controle transcricional do promotor de nestina, visando identificar maturação de progenitores hipocâmpais sob um aspecto de mapeamento genético. Os demais trabalhos utilizaram ratos como modelos animais.

Como esperado, os níveis de CAS variaram bastante neste modelo (60 e 180 mg/dl), uma vez que cada animal consumiu voluntariamente ao álcool.

Nos trabalhos relatados foram analisados córtex cerebral, hipocampo e estriado com observações anatômicas e contagem de células. Os resultados mostram redução no comprimento dendrítico e densidade de espinhos no córtex frontal de animais expostos ao álcool; houve também redução na neurogênese hipocâmpal e no comprimento e densidade dendrítica no estriado; bem como redução na expressão do receptor de N-metil-D-aspartato tipo 1 (NMDAR1) e proteína ácida fibrilante glial (GFAP) hipocâmpais (HAMILTON et al., 2010; RICE et al., 2012; KAJIMOTO et al., 2013; BROLESE et al., 2014).

Apenas dois estudos não fizeram testes comportamentais (RICE et al., 2012; KAJIMOTO et al., 2013) e, dentre os que fizeram, foi observado aumento na ansiedade, nas brigas entre machos, no comportamento de autolimpeza nas fêmeas, bem como, reduções na memória espacial e no medo contextual condicionado (HAMILTON et al., 2010; SAVAGE et al., 2010; BRADY et al., 2012; BROLESE et al., 2014; RODRIGUEZ et al., 2016).

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 3.

Tabela 3 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando consumo voluntário com acesso limitado

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Alcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Brady et al., 2012	Camundongos C57BL/6J (7,17 g/kg)	Toda a gestação	PND 90-150	68,5	Não se aplica	Não se aplica	↓ congelamento para estímulo condicionado; ↓ função do GD; ↓ aprendizagem espacial e de associação
Hamilton et al., 2010 Savage et al., 2010	Ratos Long Evans (2,82 g/kg)	Toda a gestação	PND 90-120 PND 130	84	Córtex frontal	↓ linhas basais do comprimento dendrítico densidade dos espinhos na AID em ratos alojados sempre na mesma gaiola; ↑ comprimento dendrítico basal no Cg3 em machos	↓ congelamento para estímulo condicionado; ↓ memória espacial; ↑ aumentou brigas em machos expostos a novos companheiros de gaiola
Kajimoto et al., 2013	Camundongos bi-transgênico Nestin-CreERT2/YFP (EtOH 10%)	Toda a gestação	PND 110	88	Hipocampo	↓ neurogênese; ↓ neurônios pós-mitóticos	Não se aplica
Rice et al., 2012	Ratos Long Evans (2,72 g/kg)	Toda a gestação	PND 130	84	Estriado	↓ comprimento e ramificação dendrítica na concha do núcleo acumbens	Não se aplica
Rodriguez et al., 2016	Ratos Long Evans (2,1 g/kg)	Toda a gestação	PND 120	60	Não se aplica	Não se aplica	↑ comportamento de luta nos machos; ↑ comportamento de autolimpieza em fêmeas
Brolese et al., 2014	Ratos Wistar (EtOH 10%) Paradigma das duas garrafas	DG 1-PND 22	PND 30	178	Hipocampo	↑ NMDAR-NR1; ↓ GFAP	↑ ansiedade

Legenda: AID, região insular agranular; Cg3, região pré-límbica; DG, dia gestacional; EtOH, etanol; PND, dia pós-natal; GD, giro denteado; GFAP, proteína ácida fibrilante glial; NMDAR-NR1, receptor NMDA subtipo 1.

Fonte: Produção da própria autora

5.4.4 Criação Artificial

Foram encontrados cinco trabalhos, todos com ratos, utilizando este método de administração do álcool com níveis de CAS variando entre 126 e 340 mg/dl.

Neste caso, por ser um método que introduz cirurgicamente uma cânula gástrica para alimentar e fornecer álcool aos filhotes recém-nascidos, obrigatoriamente todos os estudos trabalharam no período equivalente ao terceiro trimestre. Os tempos de exposição ao álcool variaram entre os grupos de pesquisa, sendo que três deles administraram do PND 4 ao 9 (KLINTSOVA et al., 2002; SLAWECKI et al., 2004; ALLEN et al., 2009); já Girard e colegas (2002) usaram o período do PND 6 ao 9 e Lee e colaboradores (2008) aplicaram apenas no PND 5 com foco nas células de Purkinje no cerebelo.

Três das referidas pesquisas analisaram cerebelo, córtex cerebral e hipocampo (KLINTSOVA et al., 2002; SLAWECKI et al., 2004; LEE et al., 2008), com medidas volumétricas, quantitativas e eletrofisiológicas. Os resultados mostram redução na quantidade de células de Purkinje no Lóbulo Paramediano do Cerebelo (PML) e no volume de PML, também aumento na frequência nas bandas 16/32 Hz e redução na amplitude N1 corticais (KLINTSOVA et al., 2002; SLAWECKI et al., 2004; LEE et al., 2008).

Quatro estudos fizeram avaliações comportamentais que demonstraram, dentre outras coisas, desregulação fótica do ritmo circadiano, sendo que animais expostos ao álcool durante o desenvolvimento necessitaram de 4 a 5 dias a menos para reentrar em um ritmo circadiano de atividades; redução na aprendizagem espacial; dificuldades no teste de habilidades motoras complexas e aumento na hiperatividade (KLINTSOVA et al., 2002; GIRARD et al., 2002; SLAWECKI et al., 2004; ALLEN et al., 2009).

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 4.

Tabela 4 - Modelo de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando criação artificial (inserção de tubo gástrico)

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Allen et al., 2009	Ratos Sprague-Dawley (3,0, 4,5 ou 6,0 g/kg/dia)	PND 4-9	2 meses de idade	126 214,1 257,6	Não se aplica	Não se aplica	Foi analisada a atividade diária na roda de corrida em relação à mudança do ciclo claro/escuro. A exposição ao etanol altera a regulação fótica do ritmo circadiano. Ratos EtOH necessitaram 4-5 dias a menos para reentrar em um ritmo circadiano de atividades.
Girard et al., 2002	Ratos Long-Evans (6,5 g/kg)	PND 6-9	4 e 9 meses de idade	328.56	Não se aplica	Não se aplica	↑ erros para encontrar pistas horizontais no labirinto aquático; ↓ aprendizagem espacial para localizar a plataforma. Ao final do treinamento o grupo EtOH atingiu desempenho comparável aos controles
Klintsova et al., 2002	Ratos Long Evans (4,5 g/kg)	PND 4-9	6 meses de idade	225	Cerebelo	↓ volume do PML; ↓ nº de células de Purkinje no PML	↓ aquisição de treinamento no teste de habilidades motoras complexas
Lee et al., 2008	Ratos Sprague Dawley (2,5; 4,5 ou 6,0 g/kg)	PND 5	PND 5-6	157 279 340	Cerebelo	↓ quantidade de células de Purkinje no PND 6; ↓ peso do cerebelo do grupo 6,0 g/kg	Não se aplica
Slawewski et al., 2004	Ratos Sprague Dawley (6,0 g/kg/dia)	PND 4-9	PND 114-126	246	Córtex; Hipocampo	↑ frequência nas bandas 16-32 Hz cortical frontal e cortical parietal; ↓ amplitude N1 cortical parietal	↑ hiperatividade

Legenda: EtOH, etanol; PML, lóbulo paramediano do cerebelo; PND, dia pós-natal.

Fonte – Produção da própria autora

5.4.5 Dieta Líquida

Um total de onze pesquisas utilizando este método de administração do álcool foi registrado, dos quais, apenas dois utilizaram este modelo em camundongos (ZHOU et al., 2008; SARI, 2009). Os níveis de CAS ficaram entre 55 e 232 mg/dl.

Todos os pesquisadores propuseram a exposição ao álcool apenas no período gestacional, sendo que o único que seguiu durante o período de amamentação foi Pons-Vázquez e colegas (2011). A maioria seguiu continuamente por todos os dois primeiros trimestres equivalentes; Sobrian e colaboradores (2005) administraram apenas no segundo trimestre equivalente (DG 10-20) e somente os dois grupos que utilizaram camundongos trataram em tempos pontuais do DG 7 ao 13 ou do DG 7 ao 15 (ZHOU et al., 2008; SARI, Y., 2009).

Um grande número de estruturas cerebrais foi analisado neste modelo, são as seguintes: amígdala, cérebro como um todo, córtex cerebral, eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), glânglio basal, hipocampo, hipotálamo, nervo óptico, núcleos da rafe e tubo neural (REDILA et al., 2006; ZHOU et al., 2008; SLIWOWSKA et al., 2008; SARI, Y., 2009; LAN et al., 2009; UBAN et al., 2010; PONS-VÁZQUEZ et al., 2011; TITTERNESS & CHRISTIE, 2012; BORDNAR et al., 2016; RAINEKI et al., 2016). Dentre os achados bioquímicos, hormonais, fisiológicos, anatômicos e estruturais, destaca-se o aumento de citocinas pró-inflamatórias no hipocampo e redução das mesmas no hipotálamo; redução no número de novos neurônios e novas células gliais no giro denteado (GD) do hipocampo; redução da maturidade sexual e da atividade HPA; aumento de corticosterona (CORT) e de adenocorticotrofina (ACTH).

Relacionado aos parâmetros comportamentais, apenas dois trabalhos desenvolveram este tipo de análise e encontraram aumento da atividade locomotora no teste de campo aberto em fêmeas adolescentes; aumento no comportamento tipo-ansioso em fêmeas adultas e aumento na responsividade para agonistas e antagonistas do receptor D1 de dopamina (SOBRIAN et al., 2005; RAINEKI et al., 2016).

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 5.

Tabela 5 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando dieta líquida - Continua

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Bordnar et al., 2016 Lan et al., 2009 Raineki et al., 2016 Slivowska et al., 2008 Uban et al., 2010	Ratos Sprague Dawley (36% EtOH)	DG 1-20 DG 1-21	PND 1; 8; 22 PND 11-31 Fêmeas: 29-30 42 Machos: 35-36 48 PND 90 e 120	104-150	Amígdala; Córtex pré-frontal medial Eixo HPA; Eixo HPG; Hipocampo; Hipotálamo	PND 8: ↓ níveis CBG e CRP no eixo HPA; ↑ citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-13 e IFN- γ no córtex pré-frontal e hipocampo; ↓ citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-13 e IFN- γ no hipotálamo; PND 31: ↓ nº de novos neurônios no GD; ↓ nº de novas células gliais no GD; PND 35-36: ↓ maturidade sexual; ↓ atividade HPA e HPG; ↑ estradiol basal; ↑ GnRH; ↑ LH após estresse; ↑ CORT e estresse basal; ↑ ACTH; ↑ CORT basal no ciclo proestro; ↓ CORT basal no ciclo estro; ↓ MR hipocampal nos ciclos estro e proestro; ↑ GR hipocampal no ciclo proestro; ↑ 5HT1A no ciclo diestro; ↓ CRHR1 em fêmeas adolescentes na amígdala basolateral; ↑ CRHR1 na amígdala em machos adolescentes após CMS; ↓ CRHR1 no córtex cingulado e área pré-límbica em machos adultos	PND 29-30 e 42 ↑ tempo no centro do campo aberto; ↑ atividade em fêmeas adolescentes; ↑ ansiedade em fêmeas adultas
Redila et al., 2006 Titterness & Christie, 2012	Ratos Sprague Dawley (35-35,5% EtOH)	DG 1-22	PND 30-35 PND 47 e 77	87-183	Hipocampo	PND 30-35: ↓ LTP no GD em machos; ↑ LTP no GD em fêmeas; ↓ LTP no GD em fêmeas EtOH também expostas ao estresse pré-natal; PND 77: ↓ proliferação celular no GD adulto; ↓ neurogênese no GD adulto	Não se aplica
Legenda: ACTH, adrenocorticotrofina; CBG, globulinas de ligação aos corticosteroides; CMS, estresse médio crônico; CORT, corticosterona; CRHR1, receptor de hormônio liberador de corticotrofina tipo 1; CRP, proteína C-reativa; EtOH, etanol; DG, dia gestacional; GD, giro denteado; GnRH, hormônio liberador de gonadotrofinas; GR, glicocorticoides; HPA, hipotálamo-pituitária-adrenal; HPG, hipotalâmica-pituitária-gonadal; LH, hormônio luteinizante; LTP, potenciação a longo prazo; MR, mineralocorticoides; PND, dia pós-natal; 5HT1A, serotonina tipo 1.							

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 5 – Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando dieta líquida - Conclusão

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Pons-Vázquez et al., 2011	Ratos Wistar (35% EtOH)	Ao longo de toda gestação e amamentação	PND 7; 14 e 21	105-232	Nervo óptico	↓ mielinização; ↓ axônios ópticos cruzados; ↓ MPB e NF	Não se aplica
Sobrian et al., 2005	Ratos Wistar (35% EtOH)	DG 10-20	PND 21-23	139,5	Não se aplica	Não se aplica	↑ responsividade para agonistas e antagonistas do receptor D1 de dopamina; ↑ farejamento; ↑ movimento oral; ↓ erguidas; ↓ auto-limpeza; ↓ entradas no quadrado; ↓ círculos
Sari, Y., 2009 Zhou et al., 2008	Camundongos C57BL/6 (25% EtOH)	DG 7-13 DG 7-15	DG 13 DG 15	55-140	Cérebro; Córtex cingulado; Gânglio basal; Núcleos da rafe; Tubo neural	DG 13: ↓ peso do cérebro; ↑ apoptose no primórdio do córtex cingulado e na eminência do gânglio basal; ↑ caspas 3 no cérebro; ↑ citocromo c citosólico; ↓ citocromo c mitocondrial; DG 15: ↑ aberturas anormais ao longo da linha média no canal ventral do tronco encefálico; ↑ fechamento tardio do canal ventral do tronco encefálico	Não se aplica

Legenda: DG, dia gestacional; EtOH, etanol; MPB, proteína básica de mielina; NF, proteína do neurofilamento, PND, dia pós-natal.

Fonte – Produção da própria autora

5.4.6 Intubação Intragástrica

Este foi o modelo com maior número de estudos encontrados na busca realizada, num total de quarenta e três manuscritos. Os níveis de CAS variaram de 51 a 570, sendo que os grupos que utilizaram doses consideradas mais elevadas (entre 4 e 6 g/kg) alcançaram CAS entre 300 e 500 mg/dl.

Apenas oito estudos usaram camundongos como escolha de modelo animal (CHAPPELL et al., 2007; MARGRET et al.; 2005; XIE et al., 2010; ZHOU et al., 2010; CUI et al., 2010; DREW et al., 2015; SCHAMBRA et al., 2015; WANG et al., 2015), sendo que Wang e colaboradores (2015) utilizou um modelo de camundongos nocaute para esfingomielina sintase 2 (SMS2-/-). Os demais pesquisadores optaram por trabalhar com ratos.

O período e tempo de exposição ao álcool neste modelo foi extremamente variado, tendo protocolos com cada um dos períodos equivalentes completo, a soma de dois períodos (1º e 2º ou 2º e 3º), exposição contínua ao longo dos três trimestres além de uma variedade de tempos pontuais específicos com destaque para o PND 4 ao 9.

Assim como houve grande variabilidade nos tempos de exposição, também um grande número de estruturas cerebrais foi analisado neste modelo: amígdala; área tegmental ventral; cérebro como um todo; cerebelo; córtex frontal, pré-frontal, somatossensorial, motor e visual; corpo caloso; hipocampo; hipotálamo; nervo hipoglosso; núcleo acumbens; núcleos da rafe; prosencéfalo; septo medial e região septal. Dentre os principais achados bioquímicos, fisiológicos, quantitativos, anatômicos e estruturais destaca-se a redução de células piramidais e da complexidade dendrítica no hipocampo; redução no número e comprimento dos ramos dendríticos apicais e basilares dos neurônios de projeção do corpo caloso (CCpn); aumento no número de células no córtex visual; redução do volume e peso cerebral; redução no número de motoneurônios; aumento de citocinas pró-inflamatórias no cerebelo e hipocampo (QIANG et al., 2002; TRAN & KELLY, 2003; MARINO et al., 2004; LIVY et al., 2008; HAMILTON et al., 2011 e 2012; STETTNER et al., 2013; LEIGLAND et al., 2013; BOSCHEN et al., 2016).

Com relação às alterações comportamentais ocasionadas pela exposição ao álcool durante o desenvolvimento, destacam-se alterações no condicionamento do medo contextual; diminuição da aprendizagem espacial; aumento do comportamento tipo-depressivo e tipo-ansioso; déficits no equilíbrio (MARINO et al., 2004; LEWIS et al., 2007; RYAN

et al., 2008; McGOUGH et al., 2009; MURAWSKI & STANTON, 2010; ZHOU et al., 2010; HAMILTON et al., 2011; BROCARDI et al., 2012; MURAWSKI et al., 2012; DOKOVNA et al., 2013; SCHREIBER et al., 2013; PERKINS et al., 2015).

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 6.

Tabela 6 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando intubação intragástrica – Continua

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Alcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Boschen et al., 2015; 2016 Dokovna et al., 2013 Hamilton et al., 2011; 2012; 2015 Helfer et al., 2009 Marino et al., 2004 Schreiber et al., 2013	Ratos Long Evans (5.25 g/kg/dia)	PND 4-9 PND 7-9	PND 10 PND 22-29 PND 30-33 PND 42-72 PND 78-82 112-115 PND 80	321-458	Córtex frontal; Córtex pré-frontal; Hipocampo	PND 10: ↑ BDNF; ↑ TrkB comparando com SI; ↑ corticosterona; ↓ células microgliais nas sub-regiões CA1 e GD do hipocampo; ↓ território de células microgliais em CA1 e GD; ↑ citocinas pró-inflamatórias (IL-1β, TNF-α, CD11b e CCL4) nos animais EtOH e SI; ↑ CCL4 e ↑ citocina anti-inflamatória TGF-β no grupo EtOH PND 22-29: ↓ células piramidais hipocampais; ↑ dano proteína hipocampal; PND 42: ↓ complexidade da arborização e comprimento dendrítico dos neurônios piramidais da camada mPFC II/III; ↓ pontos finais e densidade de espinhos nos ramos de 2ª e 4ª ordem dos neurônios piramidais da camada mPFC II/III	PND 22-29: ↓ navegação espacial no labirinto aquático de Morris PND 30-33: ↑ o comportamento de congelamento no CPFE; ↑ déficit na aprendizagem PND 80: ↓ contexto e condicionamento de traços no CPFE PND 112: EtOH interrompe o condicionamento de medo contextual
Lawrence et al., 2008; 2012 Lugo Jr et al., 2003; 2006 Tran & Kelly, 2003	Ratos Long Evans (3 e 4,5 g/kg)	DG 1-10 11-22 1-22 DG 1-22 + PND 2-10	PND 90 PND 112-174	283-395	Amígdala; Área tegmental ventral; Córtex pré-frontal; Córtex somatosensorial; Hipocampo; Hipotálamo; Núcleo Acumbens	PND 37-39: ↑ met-enkefalina no hipotálamo; ↓ met-enkefalina no núcleo central da amígdala; ↑ met-enkefalina no NAC das fêmeas; PND 90: ↓ atividade neuronal e imunoreatividade c-Fos no córtex somatosensorial; ↑ imunoreatividade c-fos e ↑ interseções nas ramificações dendríticas no NAC em fêmeas; ↓ densidade dos espinhos dendríticos nos neurônios da camada II/III do mPFC; ↑ tamanho do soma no mPFC PND 112-114: ↓ número de células piramidais CA1 hipocampais nos grupos DG 1-22 e PND 2-10; ↑ número de células CA1, CA3 e neurônios no GD hipocampais nos machos em todos os grupos	PND 37-39: Teste de motivação social: ↑ inalação anogenital, perseguição, salto e corridas, recuperação; ↓ fixação e mordida PND 90: ↑ frequência de pinos no jogo social; ↑ dificuldade no processamento de sinais somatosensoriais

Legenda: BDNF, fator neurotrófico derivado do encéfalo; CA1 ou 3, *Cornus Ammonis* sub-tipo 1 ou 3; CPFE, efeito de facilitação por pré-exposição de contexto; DG, dia gestacional; EtOH, etanol; GD, giro denteado; mPFC, córtex pré-frontal mediano; NAC, núcleo acumbens; PND, dia pós-natal; SI, intubação simulada; TrkB, receptor de quinase B relacionado a tropomiosina.

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 6 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando intubação intragástrica – Continua

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Leigland et al., 2013	Ratos Long Evans (4,5 g/kg)	DG 1-20	PND 0; 3; 6; 11; 19; 60	170	Cérebro	↓ volume cerebral; ↓ volume, espessura e área de superfície isocorticais	Não se aplica
Lindquist et al., 2013 (a) e (b) Perkins et al., 2015 Murawski & Stanton, 2010 Murawski et al., 2012	Ratos Long Evans (3; 4; 5 e 5,25 g/kg)	PND 2-10 PND 4-9	PND 31-32 32-33 PND 70	200-435	Hipocampo; Septo medial	PND 31-33 (3 g/kg): ↓ efluxo de acetilcolina; ↑ ChAT no septo medial nos animais que aprenderam CPFE PND 31-33 (5,25 g/kg): ↓ células CA1 c-Fos+ hipocampais; ↓ c-Fos+ hipocampais após pré-exposição	PND 31-33 (5,25 g/kg) ↑ medo de pré-exposição de contexto; ↑ congelamento condicionado; PND 70: ↓ aprendizagem de resposta condicionada na dose 5 g/kg; ↓ atividade de unidade excitatória no núcleo interposto cerebelar e região CA1 do hipocampo nas doses 3 e 5 g/kg; ↓ amplitude do pico de resposta condicionada no EBC nas doses 3 e 5 g/kg; ↑ latência de início na dose 5 g/kg
Livy et al., 2008 Qiang et al., 2002	Ratos Sprague Dawley (1,2-1,5; 2,25; 4 e 6 g/kg)	DG 1-20 DG 11-20	PND 0; 3; 6 e 10; 29; 36; 43; 50	83-570	Cérebro; Corpo caloso; Córtex visual	↓ peso do cérebro nas doses 4 e 6 g/kg; PND 0-10: ↓ número e comprimento dos ramos dendríticos apicais e basilares no CCpn nas doses 4 e 6 g/kg; PND 0-29: ↑ nº de células no córtex visual na dose 6 g/kg; ↑ eliminação de células supra granulares conforme aumenta a idade; PND 36: ↑ nº de CCpn e células no córtex visual com dose de 4 g/kg	Não se aplica
Stettner et al., 2013	Ratos Sprague Dawley (2,6 g/kg)	PND 4-9	PND 18-19	341	Nervo hipoglosso	↓ número de motoneurônios no Xlln-v; ↑ atividade dos motoneurônios α1-R+ no Xlln-v; ↑ receptores excitatórios 5-HT _{2A}	Não se aplica

Legenda: CA1, *cornu ammonis* sub-tipo 1; ChAT, colina acetil-transferase; CCpn, neurônios de projeção do corpo caloso; CPFE, efeito de facilitação por pré-exposição de contexto; DG, dia gestacional; EBC, condicionamento do piscar dos olhos; EtOH, etanol; PND, dia pós-natal; Xlln, núcleo hipoglossal; 5-HT, serotonina.

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 6 – Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando intubação intragástrica – Continua

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Wijayawardhane et al., 2007; 2008 Brocardo et al., 2012 Gil-Mohapel et al., 2011	Ratos Sprague Dawley (4 e 4,3 g/kg)	DG 3-20 DG 1-22 + PND 4-10	PND 35; 60 e 90	185-228	Hipocampo	PND 35: ↓ aberturas de AMPARs; ↓ neurotransmissão hipocampal mediada por AMPARs; ↑ nº de novos neurônios imaturos no GD; PND: 60: ↑ CORT; ↓ GSH; ↑ GR; ↑ GPx; ↓ GST na sub-região CA do hipocampo; ↑ TBARS; ↑ grupos carbonilos	↑ atividade de corrida nas fêmeas; ↑ atividade de corrida no grupo EtOH; ↑ imobilidade no teste do nado forçado; ↑ comportamento tipo-depressivo; ↑ comportamento tipo-ansioso
O'Leary-Moore et al., 2006	Ratos Sprague Dawley (4; 5 ou 6 g/kg)	DG 8-20 ou PND 4-9	PND 28-63	210-320	Não se aplica	Não se aplica	↓ performance de aprendizagem reversa no labirinto T, no PND 28 do grupo exposto no PND 4-9; ↑ nº de erros nos machos
Hsiao et al., 2003; 2004 McGough et al., 2009 Ryan et al., 2008 Volgin, D.V., 2008	Ratos Sprague-Dawley (5,25 g/kg)	PND 4-5; 6-7; 8-9; 4-9	PND 5-8 12-15 18-21 29-30 30-32 32-35 45-52	343-360	Hipotálamo; Região septal	Região Septal: ↑ correntes AMPA e de cainato no MS/DB no PND 4-9; ↑ AMPARs no MS/DB, expostos no PND 4-9; ↓ função GABA _A R expostos no PND 4-9 e 8-9; PND 29-30: ↑ subunidades α4, δ, β3 e γ2 do receptor GABA _A na região perifornical do hipotálamo posterior; ↑ subunidade δ do receptor GABA _A na área pré-óptica ventrolateral do hipotálamo anterior	PND 29-30: ↓ atividade motora espontânea; PND 45-52: ↑ atividade motora; ↑ deficiências na coordenação motora; ↓ aprendizagem espacial; ↓ memória espacial
Lewis et al., 2007	Ratos Sprague Dawley (6 g/kg)	PND 1-8 PND 8-15	PND 31	220-258	Não se aplica	Não se aplica	↑ déficit em tarefa de equilíbrio mediada por cerebelo
Chang et al., 2015	Ratos Sprague-Dawley (1 ou 3 g/kg)	DG 10-15	PND 25	51 90	Hipotálamo	↑ mRNA e densidade neuronal MHC; ↑ níveis basais de mRNA e densidade de células CCR2; Extensiva colocalização de CCR2 e MHC	↑ consumo de álcool

Legenda: AMPA, ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico; AMPARs, receptores AMPA; CA, *cornu ammonis* CCR2, receptor da quimiocina CCL2; DG, dia gestacional; CORT, corticosterona; EtOH, etanol; GABA, ácido gama-aminobutírico; GD, giro denteado; Gpx, glutatona peroxidase; GR, glutatona redutase; GSH, glutatona; GST, glutatona-S-transferase; MHC, hormônio de concentração de melanina; mRNA, RNA mensageiro; MS/DB, septo medial/banda diagonal; PND, dia pós-natal, TBARS, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 6 – Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando intubação intragástrica – Conclusão

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Chappell et al., 2007 Margret et al., 2005 Xie et al., 2010 Zhou et al., 2010	Ratos Sprague-Dawley (6 g/kg)	DG 1-20 DG 7-20	PND 28 PND 42 PND 80-85	260-349	Cérebro; Córtex motor; Córtex somatossensorial; Prosencéfalo	PND 28 Córtex motor: ↓ área da representação anterior; ↓ porcentagem de sobreposição entre a representação anterior e os córtices sensorial e motor PND 42: ↓ peso do cérebro; ↓ peso do prosencéfalo; ↓ pesos corticais nos grupos EtOH e XF; PND 42 Córtex somatossensorial: ↓ tamanho total do campo Barril; ↓ a média total dos tamanhos do PMBSF nos grupos EtOH e XF; ↓ tamanhos individuais do PMBSF e região septal entre barris nos grupos EtOH e XF; ↓ Barris anteriores comparando com posteriores; PND 80-85 Amígdala: ↓ GABA; ↑ hiperexcitabilidade neuronal	PND 80-85: ↑ comportamento tipo-ansioso
Cui et al., 2010	Camundongos C57BL/6J (2 ou 4 g/kg)	DG 5 até o parto	PND 0; 7; 14 e 30	300-500	Córtex Visual	↓ nº de espinhos dendríticos; ↑ comprimento médio dos espinhos dendríticos; ↓ nº de vesículas sinápticas; ↓ fenda sináptica; ↓ densidade pós-sináptica	Não se aplica
Drew et al., 2015	Camundongos C57BL/6J (4 g/kg)	PND 4-9	PND 10	401	Córtex; Cerebelo; Hipocampo	↑ citonas pró-inflamatórias IL-1β e TNF-α; ↑ quimiocina CCL2 no cerebelo e hipocampo; ↑ ativação microglial	Não se aplica
Schambra et al., 2015	Camundongos C57BL/6J (2,4 ou 2,9 g/kg)	DG 7 ou 8	PND 3-16	104-177	Não se aplica	Não se aplica	↓ neurocomportamental com dose 2,4 g/kg; ↑ atraso no desenvolvimento físico; ↑ atraso sensoriomotor
Wang et al., 2015	Camundongos SMS2-/- (2 ou 4 g/kg)	DG 5 até o parto	PND 0; 7; 14	150-300 300-500	Hipocampo	↓ SS nos animais SMS2-/- e WT; ↓ SS em maior quantidade nos animais SMS2-/-; ↑ apoptose das células musgosas na dose 4 g/kg; ↑ apoptose das células musgosas em maior quantidade nos animais SMS2-/-; ↑ caspase 3 e 8	Não se aplica

Legenda: CCL2, quimiocina; DG, dia gestacional; EtOH, etanol; GABA, ácido gama-aminobutírico; PMBSF, subcampo Barril posteromedial; PND, dia pós-natal, SMS2-/-, camundongo nocaute para esfingomielina sintase 2; SS, esfingomielina; WT, tipo selvagem; XF, filhotes de mães expostas ao EtOH que foram colocados na ninhada de mães não expostas.

Fonte – Produção da própria autora

5.4.7 Administração Oral

Um total de oito pesquisas utilizando este método de administração do álcool foi registrado, sendo que todos trabalharam com cobaias. Os níveis de CAS ficaram na casa dos 180 mg/dl, apenas dois trabalhos registraram valores diferentes (BYRNES et al., 2004; NASH et al., 2007), com 245 e 183 mg/dl respectivamente.

A maioria dos trabalhos executou a exposição ao álcool ao longo de toda a gestação de maneira contínua e, no caso das cobaias, esse período abrange todos os 3 trimestres equivalentes. A única exceção foi Byrnes e colaboradores (2004), que expôs do DG 43 aos 62, o que corresponde ao terceiro trimestre da gestação humana.

O foco de análise estrutural destes estudos foi o hipocampo e, em alguns, medidas do cérebro como um todo. Como resultados foi possível observar uma redução no peso do cérebro e do hipocampo; redução na liberação de glutamato no hipocampo; aumento na apoptose de células hipocampais; aumento na quantidade de citocromo c citosólico, entre outros (BUTTERS et al., 2003; BYRNES et al., 2004; GREEN et al., 2005; NASH et al., 2007).

Relacionado aos parâmetros comportamentais, as pesquisas encontraram aumento de hiperatividade e impulsividade; e redução da aprendizagem e memória espacial em animais expostos ao álcool durante o desenvolvimento (IQBAL et al., 2004; NASH et al., 2007; DOBSON et al., 2012).

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 7.

Tabela 7 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando administração oral - Continua

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Alcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Butters et al., 2003	Cobaias Dunkin-Hartley (4 g/kg)	DG 2-68	PND 1; 5	280	Hipocampo	↓ peso do hipocampo no PND 1 e 5; ↓ o teor de cGMP no PND 1; ↑ o teor de cGMP no PND 5; ↓ a liberação de glutamato no PND 5	Não se aplica
Byrnes et al., 2004	Cobaias Dunkin-Hartley (3 g/kg)	DG 43-62	PND 45-50; 60	245	Hipocampo	Não houve efeito na plasticidade sináptica (região CA1 do hipocampo) com dose usada	Nenhuma alteração na aprendizagem e memória espacial com a dose utilizada
Dobson et al., 2012	Cobaias Dunkin-Hartley (4 g/kg)	5 dias por semana durante toda a gestação	PND 10; 21-44 48-52 150-200	281	Cérebro inteiro	↓ peso do cérebro	↑ hiperatividade ↑ impulsividade ↓ aprendizagem ↓ memória espacial

Legenda: CA, *Cornus Ammonis*; DG, dia gestacional; PND, dia pós-natal; cGMP, monofosfato cíclico de guanosina.

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 7 – Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando administração oral - Conclusão

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Alcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Green et al., 2005	Cobaias Dunkin-Hartley (4 g/kg)	DG 2-64	DG 65 (feto) PND 0	281	Hipocampo	<p>↑ apoptose sem diminuição aparente de células piramidais CA1;</p> <p>↑ conteúdo citosólico de citocromo C e altera sua localização intracelular;</p> <p>↑ porcentagem de células caspase-3 ativada e PARP clivado</p>	Não se aplica
Hewitt et al., 2011	Cobaias Dunkin-Hartley (4 g/kg)	5 dias por semana durante toda a gestação	DG 65 (feto)	280	Cérebro inteiro Hipocampo	<p>↓ peso de cérebro;</p> <p>↓ peso do hipocampo;</p> <p>↓ relação entre o cérebro e o peso corporal</p>	Não se aplica
Iqbal et al., 2004 McAdam et al., 2008 Nash et al., 2007	Cobaias Dunkin-Hartley (4 g/kg)	DG 2-67	PND 10; 45; 55; 60	280 183	Cérebro inteiro; Hipocampo	<p>↓ crescimento hipocampal;</p> <p>↓ peso do hipocampo;</p> <p>↓ peso do cérebro;</p> <p>↑ expressão do receptor GABA_A em adultos jovens;</p> <p>↑ a expressão da subunidade β2/3 do receptor GABA_A</p> <p>↓ o efeito alostérico do esteroide neuroativo alopregnanolona na ligação [3H] de flunitrazepam ao receptor GABA_A</p>	<p>↑ atividade locomotora espontânea;</p> <p>↓ aprendizagem espacial;</p> <p>↑ natação em círculos</p>

Legenda: CA, *cornus ammonis*; DG, dia gestacional; PND, dia pós-natal; PARP, poli (ADP ribose) polimerase; GABAA, ácido γ-aminobutírico tipo A.

Fonte – Produção da própria autora

5.4.8 Injeção Intraperitoneal

Um total de doze pesquisas utilizando este método de administração de álcool foi registrado, dos quais, quatro utilizaram este modelo em ratos (DAVID & SUBRAMANIAM, 2009; FILGUEIRAS et al., 2010; FIROZAN et al., 2014; DIAZ et al., 2016) e os demais estudos foram feitos em camundongos. Os níveis de CAS ficaram entre 98 e 600 mg/dl, e apenas três trabalhos registraram valores inferiores a 200 mg/dl (DAVID & SUBRAMANIAM, 2009; LICONA et al., 2009; FILGUEIRAS et al., 2009), com 98,3; 122 e 174,5 mg/dl respectivamente.

Dentre estas pesquisas, quatro trataram no período gestacional, sendo que David & Subramaniam (2009) iniciaram a administração de álcool no DG 5 e continuaram aplicando em dias alternados, ao longo de toda a gestação (1º e 2º trimestres equivalentes); já Diaz e colaboradores (2016) administraram o álcool de forma aguda apenas no DG 12 e, duas pesquisas (PARNELL et al., 2009; SANDRIAN et al., 2014) também forneceram álcool de forma aguda apenas no DG 8. As pesquisas restantes utilizaram a janela temporal correspondente ao terceiro trimestre em humanos para administrar o álcool.

Oito estruturas do SNC foram analisadas: cérebro como um todo; cerebelo; córtex como um todo; córtex frontal; piriforme e visual; hipocampo e medula espinhal. Dentre os achados bioquímicos, fisiológicos, anatômicos e estruturais, destaca-se a redução nos níveis de monofosfato cíclico de adenosina no hipocampo (NUNES et al., 2011); redução da expressão do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) e da quantidade e tamanho das células de Purkinje no cerebelo (FIROZAN et al., 2014); redução na plasticidade de dominância ocular no córtex visual (LANTZ et al., 2012); redução na quantidade e tamanho de motoneurônios na medula espinhal (DAVID & SUBRAMANIAM, 2009) e redução no volume total do cérebro (PARNELL et al., 2009; O'LEARY-MOORE et al., 2010).

Relacionado aos parâmetros comportamentais, dentre os comportamentos avaliados foram observados déficits sociais em machos; aumento de comportamento tipo-ansioso com idade entre 25 e 28 dias; redução do comportamento tipo-ansioso com idade mais avançada (PND 42-77); redução na aprendizagem e memória; aumento na atividade locomotora e redução no comportamento de autolimpeza (FILGUEIRAS et al., 2009; FILGUEIRAS et al., 2010; NUNES et al., 2011; FIROZAN et al., 2014; Sandrian et al., 2014; DIAZ et al., 2016).

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 8.

Tabela 8– Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando injeção intraperitoneal - Continua

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Alcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
David & Subramaniam, 2009	Ratos Sprague-Dawley (EtOH 20%)	Toda gestação	PND 7; 14; 21; 28	98,3	Medula Espinhal	↓ quantidade e tamanho de motoneurônios	Não se aplica
Diaz et al., 2016	Ratos Sprague-Dawley (3,75 g/kg)	DG 12	PND 28; 42; 77; 80	394,7	Não se aplica	Não se aplica	↑ déficit social em machos; ↓ preferência social em machos; ↓ preferência social em fêmeas no PND 42 e 77; ↓ ansiedade em ambos os sexos
Filgueiras et al., 2010	Ratos Long Evans (5 g/kg)	PND 4-10	PND 25-28	239	Não se aplica	Não se aplica	↓ aprendizagem e memória; ↑ ansiedade
Filgueiras et al., 2009 Nunes et al., 2011	Camundongos Swiss (5 g/kg)	PND 2-8	PND 30; 75-81	174,5-321	Córtex Frontal; Hipocampo	↓ cAMP no hipocampo no PND 30	↑ atividade locomotora no PND 30; ↑ comportamento rotacional no PND 75-81
Firozan et al., 2014	Ratos Wistar - Machos (6 g/kg)	PND 4	PND 4; 21-23	204	Cerebelo	↓ quantidade e tamanho das células de Purkinje; ↓ BDNF	↓ nº de erguidas e auto-limpeza; ↓ a latência geral e permanência no rotarod
Lantz et al., 2012	Camundongos C57BL/6 (5 g/kg)	PND 5; 7;9	PND 31	411	Córtex visual	↓ plasticidade de dominância ocular	Não se aplica
Legenda: BDNF, fator neurotrófico derivado do encéfalo; cAMP, monofosfato cíclico de adenosina; DG, dia gestacional; PND, dia pós-natal.							

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 8– Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando injeção intraperitoneal - Conclusão

	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Li et al., 2015	Camundongos N-PKR ^{-/-} (2,2 ou 4,4 g/kg)	PND 4-9	PND 7	200 350	Cerebelo	Nesta linhagem transgênica, o EtOH induz menos perda neuronal cerebelar comparando com selvagem	Não se aplica
Licono et al., 2009	Camundongos nNOS ^{-/-} (2,2 ou 4,4 g/kg)	PND 4-9	PND 10	122-346	Cérebro; Córtex; Hipocampo	Animais nNOS ^{-/-} comparados com WT no PND 4 com dose 4,4 g/kg: ↑ microcefalia; ↑ perda neuronal	Não se aplica
O'Leary-Moore et al., 2010	Camundongos C57BL/6J (2,9 g/kg)	PND 10	PND 16-17	424	Cérebro	↑ volume total do cérebro ↓ volume do córtex; ↑ volume do diencéfalo; ↑ volume do 3º ventrículo	Não se aplica
Parnell et al., 2009	Camundongos C57BL/6 (5,6 g/kg)	DG 8	DG 17	381	Cérebro	↓ volume do cérebro; ↓ bulbo olfatório; ↓ hipocampo; ↓ cerebelo; ↑ região septal; ↑ hipófise	Não se aplica
Sandrian et al., 2014	Camundongos C57BL/6By (5,6 g/kg e 2,2 g/kg)	DG 8 PND 7	14-15 semanas	600 500	Córtex piriforme; Hipocampo	↓ quantidade de neurônios PV+ no PCX no DG 8 e PND 7 ↓ quantidade de neurônios PV+ no hipocampo no PND 7; ↑ LFP evocado por odor no PCX adulto; ↓ inibição do <i>feedback</i> local no PCX; ↓ quantidade de células no giro denteado	↓ memória espacial no PND 7

Legenda: DG, dia gestacional; EtOH, etanol; LFP, campo potencial local; nNOS^{-/-}, camundongos geneticamente deficientes para óxido nítrico sintase neuronal (nNOS); N-PKR^{-/-}, camundongos C57BL/6J com uma deleção direcionada dos exões 2 e 3 no domínio de ligação ao dsRNA/RAX do terminal N; PCX, córtex piriforme; PND, dia pós-natal; WT, tipo selvagem.

Fonte: Produção da própria autora

5.4.9 Injeção Subcutânea

Utilizando este método de administração de álcool foram encontradas cinco pesquisas (WOZNIAK et al., 2004; YOUNG & OLNEY, 2005; KUMRAL et al., 2005; SANDRIAN et al., 2012; HAMILTON et al., 2016), sendo que todos utilizaram camundongos da linhagem C57BL/6 como modelo animal. Os níveis de CAS variaram de 41 a 510 mg/dl e essa diferença se deu principalmente porque Young & Olney (2005) administraram diferentes doses de álcool (0,32; 0,63; 0,94; 1,25 ou 2,25 g/kg) a fim de observar uma curva de alterações dependentes de dose, e registram CAS entre 41 e 252 mg/dl. A maioria dos trabalhos ficou entre 300 e 500 mg/dl e apenas Kumral e colaboradores (2005) encontraram níveis de CAS de 160 mg/dl, provavelmente porque mediram este parâmetro no grupo de controle do tratamento farmacológico que estava sendo tratado paralelamente com salina.

As estruturas analisadas foram: cerebelo; cérebro total; córtex pré-frontal e retrosplenial; hipocampo e núcleo talâmico anterior (ATN). Dentre os achados bioquímicos, fisiológicos, anatômicos e estruturais, foi encontrada neurodegeneração em todas as regiões cerebrais; redução no volume do córtex retrosplenial; redução de 60% no volume do ATN; aumento da apoptose neural com CAS maior ou igual a 50 mg/dl; redução da plasticidade sináptica; aumento nos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e redução da atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) (WOZNIAK et al., 2004; YOUNG & OLNEY, 2005; KUMRAL et al., 2005; SANDRIAN et al., 2012; HAMILTON et al., 2016).

Relacionado aos parâmetros comportamentais, dentre os comportamentos avaliados foram observados déficits na função olfatória hipocampal; redução de aprendizagem e memória e aumento de hiperatividade (WOZNIAK et al., 2004; SANDRIAN et al., 2012; HAMILTON et al., 2016).

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados encontram-se sumarizados na tabela 9.

Tabela 9 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando injeção subcutânea

Referência	Modelo	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Hamilton et al., 2016 Kumral et al., 2005 Sandrian et al., 2012 Wozniak et al., 2004	Camundongos C57BL/6J (5 g/kg)	PND 7 PND 5; 7; 9	PND 8 PND 7-8 14; 30; 90 PND 75-80	160 510	ATN; Cerebelo; Córtex pré-frontal; Córtex Retrosplenial; Hipocampo	↑ neurodegeneração e em todas as regiões; ↑ níveis TBARS; ↓ atividade Gpx; ↓ plasticidade sináptica hipocampal; ↓ 60% do volume total do ATN no PND 14; 30 e 90; ↓ volume do córtex retrosplenial no PND 30	↑ déficits na função olfatória-hipocampal; ↑ deficiências na memória espacial a longo prazo; ↓ aprendizagem e memória no PND 30; ↑ hiperatividade; ↓ memória de trabalho no PND 90; EtOH administrado por 3 dias impacta a aquisição na tarefa de esQUIVA passiva
Young & Olney, 2005	Camundongos C57BL/6 (0,32; 0,63; 0,94; 1,25 ou 2,25 g/kg)	PND 7	PND 8	41,9 57,1 93,7 122,2 251,2	Cérebro	↑ apoptose neural com CAS > ou = 50 mg/dl	Não se aplica

Legenda: ATN, núcleo talâmico anterior; CAS, concentração de álcool no sangue; EtOH, etanol; Gpx, glutatona peroxidase; PND, dia pós-natal; TBARS, substância ácida tiobarbitúrica.

Fonte – Produção da própria autora

5.4.10 Pesquisas que utilizaram duas rotas de administração

Apenas duas pesquisas foram encontradas utilizando duas diferentes rotas de administração de álcool em um mesmo grupo experimental (LIVY et al., 2003; BROCARDO et al., 2017) sendo que ambas trabalharam com ratos como modelo animal. Os níveis de CAS registrados por Livy e colaboradores (2003) ficou entre 268 e 359 mg/dl; já Brocardo e colaboradores (2017) registraram CAS entre 91 e 94 mg/dl nas fêmeas gestantes e uma média de 255 mg/dl nos filhotes.

Com relação às rotas de administração de álcool utilizadas, Livy e colaboradores (2003) utilizaram intubação intragástrica nas fêmeas gestantes e criação artificial com os filhotes recém-nascidos, com distintos tempos de administração, fornecendo álcool do DG 1 ao 20 (1º e 2º trimestres equivalentes); DG 11 ao 20 (todo o 2º trimestre equivalente); DG 16 ao 20 (parte final do 2º trimestre equivalente); DG 1 ao 20 + PND 4 ao 9 (todos os 3 trimestres equivalentes) e PND 4 ao 9 (3º trimestre equivalente). Por outro lado, Brocardo e colegas (2017) administram álcool por meio de dieta líquida às fêmeas gestantes e por meio de intubação intragástrica (gavagem) aos filhotes recém-nascidos, também variando nos tempos de administração, sendo que um grupo consumiu álcool do DG 1 ao 10 (1º trimestre equivalente); um segundo grupo recebeu álcool do DG 11 ao 21 (2º trimestre equivalente) e um terceiro grupo foi tratado entre o PND 4 ao 9 (3º trimestre equivalente).

As estruturas analisadas foram o córtex pré-frontal e o hipocampo. Dentre os principais achados bioquímicos foi encontrada redução nos níveis de glutathiona (GSH) no córtex pré-frontal, no *Cornus Ammonis* (CA) e no GD (duas sub-regiões hipocampais); aumento de TBARS no CA e GD hipocampais e redução de carbonilação de proteínas no CA hipocampal (BROCARDO et al., 2017). Dentre os achados anatômicos e histológicos foram encontradas reduções do volume, densidade e número de células na sub-região CA1 hipocampal; redução do volume da sub-região CA3 hipocampal e redução da densidade e número de células nas sub-regiões CA3 e GD hipocampais (LIVY et al., 2003).

Não foram realizadas análises comportamentais.

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados, encontram-se sumarizados na tabela 10.

Tabela 10 - Modelos de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizando duas vias de administração

Referência	Modelo Via de administração	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Principais Achados	Avaliação Comportamental
Brocardo et al., 2017	Ratos Sprague Dawley (35,5% EtOH; 4 g/kg) Dieta Líquida Intubação Intra gástrica	DG 1-10 DG 11-21 PND 4-10	PND 60	Mães: 91-94 Filhotes: 255	Córtex pré-frontal; Hipocampo	↓ GSH nas sub-regiões CA e GD hipocampais e no córtex pré-frontal; ↑ TBARS nas sub-regiões CA e GD hipocampais; ↓ carbonilação de proteínas no CA hipocampal;	Não se aplica
Livy et al., 2003	Ratos Sprague Dawley (6; 5,1 e 5 g/kg) Intubação Intra gástrica Criação Artificial	DG 1-20; 11-20; 16-20; DG 1-20 + PND 4-9 PND 4-9	PND 10	268-359	Hipocampo	↓ volume CA1, densidade e nº de células piramidais nos grupos tratados no PND 4-9; ↓ volume CA3 em todas as idades; ↓ densidade e nº de células na região CA3 e no DG nos grupos tratados no PND 4-9;	Não se aplica
Legenda: CA, <i>Cornus Ammonis</i> ; DG, dia gestacional; EtOH, etanol; GD, giro denteado; GSH, glutatona; PND, dia pós-natal; TBARS, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.							

Fonte – Produção da própria autora

5.4.11 Pesquisas que utilizaram algum tratamento/intervenção

Dentre as 107 pesquisas encontradas na presente revisão sistemática, 32 fizeram algum tipo de tratamento ou intervenção visando mitigar ou reduzir os efeitos prejudiciais que ocorrem ao longo da vida de indivíduos expostos ao álcool durante o período de desenvolvimento. Dentre estes estudos, apenas 3 trabalharam com cobaias (NASH et al., 2007; McADAM et al., 2008; HEWITT et al., 2011) e 9 estudos usaram camundongos como escolha de modelo animal (KUMRAL et al., 2005; ZHOU et al., 2008; SARI, Y., 2009; NUNES et al., 2011; SANDRIAN et al., 2012; LANTZ et al., 2012; KAJIMOTO et al., 2013; DREW et al., 2015; HAMILTON et al., 2016). Os demais pesquisadores optaram por trabalhar com ratos.

A aplicação de um protocolo de exercício voluntário na roda de corrida foi a forma mais recorrente de intervenção, abrangendo 5 estudos (REDILA et al., 2006; HELFER et al., 2009; BROCARDI et al., 2012; HAMILTON et al., 2015 e 2016), e dentre os principais benefícios alcançados através do exercício físico voluntário estão a redução do comportamento tipo-depressivo; aumento nos níveis de GSH hipocampal; aumento da proliferação celular e neurogênese hipocampal; aumento do comprimento dendrítico e da densidade dos espinhos dendríticos em células piramidais do córtex pré-frontal medial (mPFC). Klintsova e colaboradores (2002) usaram um protocolo de treinamento em habilidades motoras complexas por 20 dias (PND 180-200) e perceberam aumento da camada molecular do lóbulo paramediano (PML) cerebelar e aumento na quantidade de fibras paralelas por células de Purkinje no cerebelo.

Dois estudos aplicaram protocolos combinados de exercício físico voluntário (EFV) somado ao enriquecimento ambiental (EA) (HAMILTON et al., 2012; SCHREIBER et al., 2013), dos quais apenas Hamilton e colaboradores (2012) observaram efeitos benéficos nos animais expostos ao álcool durante o desenvolvimento e que tiveram acesso ao protocolo EFV e EA. Dentre estes benefícios estão o aumento no número de neurônios recém gerados no GD hipocampal após EFV e sobrevivência destes neurônios recém gerados nos grupos expostos ao EFV somado ao EA. Outros dois estudos utilizaram protocolos de alterações ambientais e não encontraram resultados nos animais expostos ao álcool durante o desenvolvimento (KAJIMOTO et al., 2013; RODRIGUEZ et al., 2016).

Dentre os 21 trabalhos que utilizaram como meio de tratamento/intervenção algum tipo droga ou substância química,

destacam-se Dokovna e equipe (2013), com administração de fisostigmina (0.01 mg/kg i.p.), um inibidor de acetilcolinesterase, ao longo de 3 fases de treinamento e testes de facilitação por pré-exposição de contexto (CPFE), com resultados mostrando diminuição do comportamento de congelamento no CPFE e aumento na aprendizagem nos grupos expostos ao álcool durante o desenvolvimento e que foram tratados com fisostigmina. Filgueiras e colaboradores (2010) fizeram administração de vinpocetina (20 mg/kg i.p.), um inibidor de fosfodiesterase tipo 1, ao longo de todo o período de avaliações comportamentais, o que resultou em melhora na aprendizagem. Nunes e equipe (2011) também trataram os animais com vinpocetina (10 ou 20 mg/kg i.p.) só que de forma aguda, no PND 30, 4 horas antes dos testes comportamentais e encontraram aumento na atividade locomotora e aumento nos níveis de monofosfato cíclico de adenosina nos animais expostos ao álcool durante o desenvolvimento e que foram tratados com vinpocetina na dose de 20 mg/kg.

Ressaltam-se ainda Firozan e equipe (2014), os quais administraram 17β -estradiol (300, 600 ou 900 μ g/kg s.c.) no PND 4, 30 minutos antes da injeção i.p. de álcool de forma aguda, encontrando significativos resultados no cerebelo com destaque para aumento na quantidade de células de Purkinje; aumento na expressão de BDNF e redução nas deficiências motoras provocadas pela exposição ao álcool durante o desenvolvimento. Kumral e colegas (2005) fizeram administração eritropoietina (EPO) (1000 U/kg i.p.), uma citocina hematopoiética, de forma concomitante à administração aguda do álcool no PND 7 e, dentre os seus principais achados estão a redução da apoptose e dos níveis de TBARS e aumento dos níveis de GPx no cerebelo, córtex pré-frontal e hipocampo. Marino e equipe (2004) forneceram nos PNDs 7,8 e 9, por intubação intragástrica juntamente com a administração do álcool, vitamina E (2 g/kg), um antioxidante; e observaram redução nos níveis de carbonilação proteica hipocampal e aumento no número de células piramidais da região CA1 hipocampal. Ainda, McGough e colaboradores (2009) observaram melhoras na coordenação motora de animais expostos ao álcool durante o desenvolvimento e que foram tratados com fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-I) (10 μ g intranasal) do PND 10 ao 13.

Os parâmetros utilizados em cada pesquisa e os principais achados, encontram-se sumarizados na tabela 11.

Tabela 11 - Grupos que testaram tratamentos e/ou intervenções - Continua

Referência	Modelo Via de administração	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Tipo de Intervenção/Tratamento	Principais Efeitos
Brocardo et al., 2012	Ratos Sprague Dawley (4 e 4,3 g/kg) i.g.	DG 1-22 + PND 4-10	PND 60	195-228	Hipocampo	Exercício voluntário na roda de corrida PND 48-60	↑ tempo de corrida; ↓ comportamento tipo-depressivo nos machos; ↑ GSH
Dokovna et al., 2013	Ratos Long Evans (5.25 g/kg/dia) i.g.	PND 7-9	PND 30-33	436-457	Não se aplica	Fisostigmina- inibidor de acetilcolinesterase (0.01 mg/kg i.p.)	↓ o comportamento de congelamento no CPFE; ↓ déficit na aprendizagem
Drew et al., 2015	Camundongos C57BL/6J (4 g/kg) i.g.	PND 4-9	PND 10	401	Córtex; Cerebelo; Hipocampo	Pioglitazona - agonista PPAR- γ (12.5 mg/kg/ 6 dias - i.g.)	↓ aumento induzido por etanol das citocinas e quimiocinas em todos os tecidos; ↓ ativação microglial
Filgueiras et al., 2010	Ratos Long Evans (5 g/kg) i.p.	PND 4-10	PND 25-28	239	Não se aplica	Vinpocetina - inibidor da fosfodiesterase tipo 1 (20 mg/kg i.p)	↑aprendizagem e memória
Firozan et al., 2014	Ratos Wistar (6 g/kg) i.p.	PND 4	PND 4; 21-23	204	Cerebelo	17 β -estradiol (300, 600 ou 900 μ g/kg – s.c.)	↑ quantidade células de Purkinje; ↑ BDNF; ↓ deficiências motoras
Hamilton et al., 2012; 2015 Helfer et al., 2009 Schreiber et al., 2013	Ratos Long Evans (5.25 g/kg/dia) i.g.	PND 4-9	PND 42 PND 30; 41; 50; 58; 66 e 80	300-400	Córtex; Hipocampo	Exercício voluntário na roda de corrida; Ambiente enriquecido PND 30-42 PND 30 ou 42 (24h) PND 42-72	↑ o número de neurônios recém-gerados sobreviventes no GD; ↑ proliferação celular no GD; ↑ comprimento dendrítico total dos neurônios piramidais da camada mPFC II/III; ↑ pontos finais e densidade de espinhos nos ramos de 2ª e 4ª ordem dos neurônios piramidais da camada mPFC II/III

Legenda: BDNF, fator neurotrófico derivado do encéfalo; CPFE, efeito de facilitação de pré-exposição de contexto; DG, dia gestacional; GD, giro denteado; GSH, glutatona; i.g., intubação intragástrica; i.p., injeção intraperitoneal; mPFC, córtex pré-frontal medial; PND, dia pós-natal; PPAR, receptor ativado por proliferador de peroxissomo; s.c., subcutâneo.

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 11 – Grupos que testaram tratamentos e/ou intervenções - Continua

Referência	Modelo Via de administração	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Tipo de Intervenção/Tratamento	Principais Efeitos
Hamilton et al., 2016	Camundongos C57BL/6J (5 g/kg) s.c.	PND 7 PND 5; 7; 9	PND 75-80	300-500	Hipocampo	Exercício voluntário na roda de corrida PND 35-80/81	↑ neurogênese; ↑ coordenação no rotarod; ↑ desempenho na tarefa de esquiwa passiva
Hewitt et al., 2011	Cobaia Dunkin-Hartley (4 g/kg) A.O.	Toda gestação	DG 65 (feto)	280	Cérebro inteiro; Hipocampo	Ácido fólico (2 mg/kg/dia) 5 dias por semana, ao longo de toda a gestação	O ácido fólico nesta dose não mitigou os efeitos provocados pelo EtOH
Kajimoto et al., 2013	Camundongos bi-transgênico Nestin-CreERT2/YFP (EtOH 10%) C.V.	Toda gestação	PND 110	88	Hipocampo	Ambiente enriquecido PND 45-115	A ambiente enriquecido não altera a neurogênese nos animais EtOH
Klintsova et al., 2002	Ratos Long Evans (4,5 g/kg) C.A.	PND 4-9	180 dias	225	Cerebelo	Treinamento em habilidades motoras complexas PND 180-200	↑ camada molecular PML; ↑ fibras paralelas por célula de Purkinje
Kumral et al., 2005	Camundongos C57BL/6J (5 g/kg) s.c.	PND 7	PND 8	Etanol 160 Etanol + EPO 325	Cerebelo; Córtex pré-frontal; Hipocampo	Eritropoietina (1000 U/kg i.p.) Citocina hematopoiética	↓ apoptose no cerebelo, córtex pré-frontal e hipocampo; ↓ peroxidação lipídica; ↑ níveis de antioxidantes
Lantz et al., 2012	Camundongos C57BL/6 (5 g/kg) i.p.	PND 5; 7;9	PND 31	411	Córtex visual	Vinpocetina (20 mg/kg) - inibidor da PDE1; Rolipram (1,25 mg/kg) - inibidor da PDE4; Vardenafil (3 mg/kg) - inibidor da PDE5	Vinpocetina administrada sozinha restabeleceu ODP; Rolipram e Vardenafil administrados simultaneamente restauraram ODP
Lewis et al., 2007	Ratos Sprague Dawley (6 g/kg) i.g.	PND 1-8; 8-15	PND 31	220-258	Não se aplica	Agmatina (20 mg/kg) - modulador de NMDAR	↑ equilíbrio

Legenda: A.O., administração oral; C.A., criação artificial; C.V., consumo voluntário; DG, dia gestacional; EPO, Eritropoietina; EtOH, etanol; i.g., intubação intragástrica; i.p., injeção intraperitoneal; NMDAR, receptor de n-metil-d-aspartato; ODP, plasticidade da dominância ocular; PDE, fosfodiesterase; PML, lóbulo paramediano; PND, dia pós-natal; s.c., subcutâneo.

Tabela 11 – Grupos que testaram tratamentos e/ou intervenções - Continua

Referência	Modelo Via de administração	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Tipo de Intervenção/Tratamento	Principais Efeitos
Marche et al., 2011	Ratos Wistar (11% EtOH) A.B.	Todos os 3 trimestres equivalentes	3; 5; 10 semanas	28-142	Não se aplica	Fenofibrato - derivado do ácido fíbrico (modifica lipídios em humanos através da ativação dos PPAR α)	↓ déficit de atenção; ↓ hiperatividade; ↓ ansiedade
Marino et al., 2004	Ratos Long Evans (5,25 g/kg) i.g.	PND 7; 8 e 9	PND 22-29	457	Hipocampo	Vitamina E (2 g/kg) – antioxidante	↓ carbonilos proteicos; ↑ células piramidais CA1
McAdam et al., 2008	Cobaia Dunkin-Hartley (4 g/kg) A.O.	DG 2-67	PND 55-60	183	Não se aplica	Fluoxetina (10 mg/kg i.p.) - inibidor seletivo da recaptação de serotonina. - PND 10-48	Não mitigou a resposta de natação em círculos
McGough et al., 2009	Ratos Sprague Dawley (5,25 g/kg) i.g.	PND 4-9	PND 18-52	348	Não se aplica	IGF-I (10 μ g intranasal)	↑ coordenação motora
Nash et al., 2007	Cobaia Dunkin-Hartley (4 g/kg) A.O.	DG 2-67	PND 43-47	257	Hipocampo	Vitamina C (250 mg/kg) A.O. Vitamina E (150 mg/kg) A.O.	O regime de vitaminas C + E protegeu o peso do hipocampo em relação ao peso do cérebro; ↓ déficit induzido pelo etanol no componente de retenção de tarefas do teste do labirinto aquático
Nunes et al., 2011	Camundongos Swiss (5 g/kg) i.p.	PND 2-8	PND 30	321	Córtex Frontal; Hipocampo	Vinpocetina (10 ou 20 mg/kg)	Dose de 20 mg/kg: ↑ atividade locomotora; ↑ níveis de cAMP
Perkins et al., 2015	Ratos Long Evans (3 g/kg) i.g.	PND 2-10	PND 31-32 32-33	318	Hipocampo; Septo medial	Galantamina (2 mg/kg)	↑ resposta a acetilcolina para galantamina; ↓ ChAT no septo medial
Redila et al., 2006	Ratos Sprague Dawley (35,5% EtOH) D.L.	DG 1-22	PND 47 e 77	188,6	Hipocampo	Exercício voluntário na roda de corrida PND 50-58 - PND 50-78	↑ proliferação celular e neurogênese no GD
Rodriguez et al., 2016	Ratos Long Evans (2,1 g/kg) C.V.	Toda gestação	PND 120	60	Não se aplica	Ambiental: alojar ratos expostos com ratos não expostos ao EtOH	Prejudicou comportamentos sociais, motor e flexibilidade espacial em ratos controle alocados com ratos EtOH

Legenda: A.B., água de beber; A.O., administração oral; CA1, *Cornus Ammoni* sub-tipo 1; cAMP, monofosfato cíclico de adenosina; ChAT, colina acetiltransferase; C.V., consumo voluntário; DG, dia gestacional; D.L., dieta líquida; EtOH, etanol; GD, giro denteado; i.g., intubação intragástrica; IGF-I, fator de crescimento semelhante à insulina; i.p., injeção intraperitoneal; PND, dia pós-natal; PPAR, receptores ativados da proliferação de peroxissomos.

Fonte – Produção da própria autora

Tabela 11 – Grupos que testaram tratamentos e/ou intervenções – Conclusão

Referência	Modelo Via de administração	Período de Exposição ao Álcool	Período da Análise	Níveis de CAS (mg/dl)	Estruturas Analisadas	Tipo de Intervenção/Tratamento	Principais Efeitos
Sandrian et al., 2012	Camundongo C57BL/6J (5 g/kg) s.c.	PND 7	PND 8	500	Hipocampo	Cloreto de Lítio (10 µl/g, 6 m Eq/kg i.p.)	↓ neurodegeneração; ↑ plasticidade sináptica na região CA1; ↑ memória espacial
Sari, Y., 2009	Camundongos C57BL/6 (25% EtOH) D.L.	DG 7-13	DG 13	55	Cérebro; Córtex cingulado; Gânglio basal	Peptídeo NAPVSIPQ (NAP) (20 ou 30 µg/20 g i.p)	↑ peso cerebral; ↓ apoptose no córtex e gânglio basal; ↓ caspase-3; ↓ citocromo c citosólico; ↑ citocromo c mitocondrial
Savage et al., 2010	Ratos Long Evans (2,82 g/kg) C.V.	Durante toda gestação	PND 90-150	84	Não se aplica	ABT-239 (1 mg/kg i.p.)	↑ memória espacial
Wijayawardhane et al., 2007; 2008	Ratos Sprague Dawley (4 g/kg) i.g.	DG 3-20	PND 35	185	Hipocampo	Aniracetam (50 mg/kg i.g.)	↑ aberturas de AMPARs; ↑ neurotransmissão hipocampal mediada por AMPARs
Zhou et al., 2010	Ratos Sprague Dawley (6 g/kg) i.g.	DG 7-20	PND 80-85	349	Amígdala	Midazolam (MDZ) (1µg em volume de 0,5 µl)	↓ ansiedade; ↑ GABA; ↓ hiperexcitabilidade neuronal; ↓ LTP
Zhou et al., 2008	Camundongos C57BL/6 (25% EtOH) D.L.	DG 7-15	DG 15	140	Núcleos da rafe; Tubo neural	[SALLRSIPA, (SAL)] [NAPVSIPQ, (NAP)]	SAL impediu a disrafia e protegeu contra as reduções nos neurônios 5-HT na rafe rostral e caudal

Legenda: AMPA, ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico; AMPARS, receptores AMPA; C.V., consumo voluntário; DG, dia gestacional; D.L., dieta líquida; EtOH, etanol; i.g., intubação intragástrica; GABA, ácido gama-amino-burítico; i.p., injeção intraperitoneal; LTP, potenciação a longo prazo; PND, dia pós-natal; 5-HT, serotonina.

Fonte – Produção da própria autora

5.5 VANTAGENS E DESVANTAGENS DOS MODELOS ANIMAIS UTILIZANDO ROEDORES

Após análise dos diferentes modelos animais utilizados para estudar os efeitos da exposição pré-natal ao álcool, e a fim de facilitar o modelo mais adequado para cada tipo de protocolo experimental, foram determinadas algumas vantagens e desvantagens dos modelos utilizando os diferentes tipos de espécies de roedores encontradas na busca sistemática da literatura existente sobre FASD. Estes dados estão compilados na forma de tabela e podem ser visualizados na Tabela 12.

Tabela 12 - Vantagens e desvantagens dos diferentes modelos animais utilizando roedores para exposição de álcool durante o desenvolvimento

Roedor	Vantagens	Desvantagens
Rato	<ul style="list-style-type: none"> - Maior tamanho corporal, o que facilita manipulação e coleta de amostras; <li style="padding-left: 20px;">- Comportamento dócil; - Ninhadas com grande quantidade de filhotes; - Tempo de vida relativamente curto; <li style="padding-left: 20px;">- Maior facilidade na análise de comportamentos mais sofisticados, incluindo testes de aprendizagem, memória e funções executivas; - Baixos custos de manutenção 	<ul style="list-style-type: none"> - Período gestacional curto, fazendo com que a exposição no período correspondente ao terceiro trimestre ocorra após o nascimento
Camundongo	<ul style="list-style-type: none"> - Maior facilidade de manipulação; <li style="padding-left: 20px;">- Comportamento dócil; <li style="padding-left: 20px;">- Ninhadas com grande quantidade de filhotes; - Tempo de vida relativamente curto; <li style="padding-left: 20px;">- Maior possibilidade de manipulação genética; - Baixos custos de manutenção 	<ul style="list-style-type: none"> - Período gestacional curto, fazendo com que a exposição no período correspondente ao terceiro trimestre ocorra após o nascimento; <li style="padding-left: 20px;">- Maior dificuldade de observações comportamentais comparando com ratos
Cobaia	<ul style="list-style-type: none"> <li style="padding-left: 20px;">- Comportamento dócil; - Todo período gestacional <i>in utero</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <li style="padding-left: 20px;">- Ninhada reduzida; <li style="padding-left: 20px;">- Maior tempo de projeto; <li style="padding-left: 20px;">- Maiores custos do projeto; <li style="padding-left: 20px;">- Maior dificuldade em testes comportamentais

Fonte: Produção da própria autora

5.6 VANTAGENS E DESVANTAGENS DAS DIFERENTES ROTAS DE ADMINISTRAÇÃO DE ÁLCOOL

A partir das diferentes rotas de administração de álcool durante o desenvolvimento utilizadas para estudar os efeitos da exposição pré-natal ao álcool, e a fim de facilitar o modelo mais adequado para cada tipo de protocolo experimental, foram determinadas algumas vantagens e desvantagens sobre cada rota de administração encontrada na busca sistemática da literatura existente sobre FASD. Estes dados estão compilados na forma de tabela e podem ser visualizados na Tabela 13.

Tabela 13 - Vantagens e desvantagens das diferentes rotas de administração de álcool durante o desenvolvimento

Rota de Administração	Vantagens	Desvantagens
Água de beber; Dieta Líquida; Consumo voluntário; Paradigma das duas garrafas	<ul style="list-style-type: none"> - Técnicas simples; - Menos trabalho; - Menos manipulação; - Mimetizam a ingestão em humanos 	<ul style="list-style-type: none"> - Dificil controlar a dose e o tempo de exposição ao álcool; - Maior variabilidade nos níveis de CAS; - Adequada apenas para o primeiro e segundo trimestres equivalentes
Intubação intragástrica	<ul style="list-style-type: none"> - Controle preciso da dose; - Alcance elevados níveis de CAS; - Mimetiza consumo excessivo em humanos; - Pode ser utilizada no terceiro trimestre equivalente 	<ul style="list-style-type: none"> - Procedimento invasivo; - Aumenta estresse nos animais; - Aumenta mortalidade nos animais; - Procedimento trabalhoso; - Necessita pessoal treinado para a técnica
Criação artificial com inserção de cânula gástrica	<ul style="list-style-type: none"> - Controla quantidades de comida e álcool fornecidas aos filhotes; - Níveis de CAS estáveis 	<ul style="list-style-type: none"> - Bastante invasivo; - Altos custos; - Isola o filhote da ninhada e da mãe
Administração oral	<ul style="list-style-type: none"> - Possibilita controle da dose; - Níveis de CAS estáveis; - Menos invasivo do que a intubação intragástrica; - Mimetiza a forma de ingestão em humanos 	<ul style="list-style-type: none"> - Constante manipulação dos animais; - Procedimento trabalhoso; - Restrito ao modelo animal de cobaias
Câmaras de inalação de vapor	<ul style="list-style-type: none"> - Aumenta os níveis de CAS de forma rápida e confiável; - Não ocasiona o estresse da intubação; - Menos trabalho; - Pode ser exposto em múltiplos animais ao mesmo tempo; - Pode ser utilizado tanto em fêmeas gestantes quanto em filhotes 	<ul style="list-style-type: none"> - Não mimetiza a rota de administração em humanos; - Irrita o trato respiratório; - Pode ocasionar estresse aos filhotes devido o tempo de separação da mãe
Injeção intraperitoneal ou subcutânea	<ul style="list-style-type: none"> - Altos níveis de CAS; - Limitado estresse por manipulação; - Mimetiza exposição em períodos agudos 	<ul style="list-style-type: none"> - Não se assemelha ao consumo de etanol em seres humanos; - Pode ter uma incidência de malformações mais elevadas quando comparado as mesmas doses com intubação intragástrica

Fonte: Produção da própria autora

6 DISCUSSÃO

6.1 MODELOS ANIMAIS UTILIZANDO ROEDORES

Existe uma variedade de características associadas aos animais utilizados em pesquisas laboratoriais, tais como: tamanho reduzido, ciclo reprodutivo curto, prole numerosa, adaptação à vida em cativeiro, dentre outras (SANTOS, B.F., 2002, p. 24).

Neste sentido, os roedores podem ser destacados como os mais utilizados em pesquisas experimentais, pois atendem às características anteriormente mencionadas somadas a outros fatores, dentre os quais: docilidade, fácil domesticação e manuseio, adaptação à ambientes variados e sociabilidade (SANTOS, B.F., 2002, p. 24). Os roedores mais utilizados como modelo animal são o rato (*Rattus norvegicus*), o camundongo (*Mus musculus*), a cobaia (*Cavia porcellus*) e o hamster sírio (*Mesocricetus auratus*) (RN33, 2016).

A presente revisão sistemática encontrou a utilização de 3 espécies de roedores como modelo animal de pesquisas com exposição ao álcool durante o desenvolvimento, sendo que o rato estava presente em 70% das pesquisas, o camundongo em 22% e a cobaia em 8%. Este resultado corrobora com a afirmação de Gil-Mohapel e colaboradores (2010), quando enfatizam que o grupo dos roedores compreendem os animais mais comumente utilizados nas pesquisas com FASD, pois são ideais para explorar questões de ciência básica relacionadas à biologia molecular, plasticidade sináptica, comportamento e cognição.

Dentre as espécies de animais encontradas nesta pesquisa, podemos elencar alguns pontos favoráveis e desfavoráveis para cada espécie animal (Tabela 12). Na definição de um protocolo experimental para estudar os efeitos da exposição ao álcool durante o desenvolvimento a escolha da espécie animal deve ser feita baseada no conhecimento das vantagens e desvantagens de cada espécie.

6.1.1 O uso de ratos como modelo animal para investigar os efeitos da exposição ao álcool durante o desenvolvimento

Os ratos são os roedores mais comumente usados como modelos de FASD. A primeira vantagem de usar esta espécie é seu tamanho corporal grande quando comparado a camundongos, o que torna os procedimentos de manipulação e amostragem mais fáceis. Modelos de ratos também são frequentemente vantajosos sobre camundongos por causa de comportamentos mais sofisticados, incluindo testes de

aprendizagem, memória e funções executivas, que podem ser mais facilmente examinadas em ratos, enquanto camundongos tem um repertório de comportamentos mais limitado. Estes animais tem uma vida útil curta, um período gestacional que é análogo ao primeiro e segundo trimestres de gestação humana e, normalmente, são espécies que se adaptam às condições de moradia e alimentação padrões de laboratórios (PATTEN et al., 2014).

6.1.2 O uso de camundongos como modelo animal para investigar os efeitos da exposição ao álcool durante o desenvolvimento

Um das grandes vantagens do uso de camundongos é a facilidade de manipulação, comportamento dócil, nascimento de grandes ninhadas e tempo de vida relativamente curto (RN33, 2016). Outra vantagem é a facilidade de manipulação genética se comparado aos outros roedores (PATTEN et al., 2014). Vale destacar muitos estudos que tem como objetivo estudar os componentes genéticos associados com FASD tem utilizado camundongos como modelo (LICONA et al., 2009; KAJIMOTO et al., 2013; LI et al., 2015; WANG et al., 2015; NIRGUDKAR et al., 2016). Além disso, muitas características comuns de FASD que são observadas em indivíduos humanos expostos ao álcool durante o desenvolvimento também são observadas em camundongos, incluindo alterações bioquímicas, malformação anatômica, retardo no crescimento e déficits cognitivos (CUI et al., 2010; BRADY et al., 2012; ABBOTT et al., 2017).

Uma desvantagem que pode ser destacada tanto para ratos como para camundongos é que o período equivalente ao terceiro trimestre do desenvolvimento humano ocorre após o nascimento, nos 10 dias iniciais do período pós-natal e, com intuito de mimetizar os efeitos da exposição ao álcool que possam ocorrer no terceiro trimestre equivalente, muitos estudos precisam administrar álcool durante o período pós natal inicial (PND 1-10) (ALLEN et al., 2009; DOKOVNA et al., 2013; BACULIS et al., 2015; DREW et al., 2015; BOSCHEN et al., 2016; BROCARDI et al., 2017). No entanto, podem surgir questões relacionadas a este método, pois a exposição ao álcool ocorre fora do confinamento da barreira placentária e a cinética e o metabolismo podem ser fundamentalmente diferentes quando comparados com o que acontece no útero (PATTEN et al., 2014).

6.1.3 O uso de cobaias como modelo animal para investigar os efeitos da exposição ao álcool durante o desenvolvimento

As cobaias são espécies utilizadas em alguns laboratórios pois oferecem a vantagem de mimetizarem uma verdadeira exposição no útero porque o período equivalente ao terceiro trimestre de desenvolvimento do cérebro em humanos ocorre em grande parte durante a gestação, sendo que o período gestacional nestes animais é em torno de 68 dias. O resultado de alguns destes estudos tem indicado que a exposição ao álcool durante o desenvolvimento pode causar déficits estruturais, funcionais e cognitivos que mimetizam as condições humanas (BUTTERS et al., 2003; BYRNES et al., 2004; IQBAL et al., 2004; GREEN et al., 2005; NASH et al., 2007; DOBSON et al., 2012). O inconveniente de usar estes animais é que o tamanho da ninhada é muito menor do que ratos e camundongos e o longo período de gestação pode aumentar o tempo e os custos do projeto. Além disso, cobaias são mais difíceis de usar em testes de comportamentos, pois são animais tímidos e não são naturalmente exploratórios podendo não realizar tão bem como os ratos e camundongos as várias tarefas comportamentais (PATTEN et al., 2014; RN33, 2016).

6.2 ROTAS DE ADMINISTRAÇÃO DE ÁLCOOL DURANTE O DESENVOLVIMENTO

Ao escolher um modelo animal de exposição ao álcool durante o desenvolvimento, além de observar qual a espécie animal mais adequada, também é preciso analisar qual rota de administração pode atender de maneira mais criteriosa a pergunta da pesquisa. Um dos itens mais importantes de serem pensados em um delineamento experimental de FASD, por exemplo, é saber quais os níveis de CAS se pretende alcançar em determinado período de tempo (PATTEN et al., 2014). Existem vários modelos de administração de álcool ao longo do desenvolvimento, utilizando diferentes rotas de administração. Na presente revisão sistemática foram encontrados 11 distintas maneiras de administrar álcool e, dentre elas, 10 rotas de administração, sendo que 5 pesquisas utilizaram álcool em solução na “**água de beber**”; 9 colocaram os animais em “**câmaras de inalação de vapor**”; 5 pesquisas usaram o meio de **criação artificial** com implantação de cânula gástrica; 6 trabalhos utilizaram o paradigma do “**consumo voluntário**”; 11 usaram “**dieta líquida**”; 2 pesquisas mesclaram duas vias de administração no mesmo estudo (dieta líquida para fêmeas gestantes e intubação intragástrica para filhotes ou intubação intragástrica para as fêmeas gestantes e criação artificial com

os filhotes); 12 artigos utilizaram **injeção intraperitoneal** e 5 usaram **injeção subcutânea**; 43 estudos administraram álcool por “**intubação intragástrica**”; 8 forneceram o álcool por “**administração oral**” e apenas um estudo relatou usar o “**paradigma das duas garrafas**” onde disponibilizou uma garrafa com água normal e outra com solução de álcool ao longo de todo período de exposição.

A fim de facilitar a escolha de um modelo de administração de álcool durante o período desenvolvimental, o objetivo desta pesquisa, além de elencar quais as rotas que estão sendo mais utilizadas pelos pesquisadores nos últimos anos, é também apresentar algumas vantagens e desvantagens de cada modelo (Tabela 13).

6.2.1 Rota de administração de álcool que mimetizam a forma de consumo em humanos – por meio de ingestão

a) Água de beber

Neste modelo, o grupo de fêmeas prenhas tratadas com álcool recebe *ad libitum* e como único fluido disponível para beber, uma solução de álcool misturada à água. Normalmente é disponibilizada água sem álcool por um curto período diário (em média 2 horas) para evitar desidratação, o que, se ocorrer, pode ser uma grande desvantagem do modelo. Como alimento os animais recebem ração padrão de biotério (EVARD et al., 2003; BARBIER et al., 2009). Os níveis de CAS podem variar bastante neste modelo, mas a média encontrada nas pesquisas ficou entre 100 e 140 mg/dl nas fêmeas gestantes (FIORE et al., 2009; MARCHE et al., 2011; ABBOTT et al., 2017).

b) Dieta Líquida

Por esta rota, as fêmeas gestantes recebem como único alimento disponível e inserido de forma gradual ao longo de alguns dias, uma dieta líquida contendo álcool e formulada para promover uma nutrição adequada. Normalmente é fornecido ao longo de toda a gestação e, em muitos casos, também ao longo da lactação. O grupo tratado com EtOH tem acesso livre à água (PATTEN et al., 2014; BODNAR et al., 2016). A média dos níveis de CAS encontrada varia de 100 a 185 mg/dl (SLIWOWSKA et al., 2008; LAN et al., 2009; UBAN et al., 2010; BODNAR et al., 2016; RAINEKI; et al., 2016).

c) Consumo voluntário

Neste modelo, normalmente os animais são adaptados ao consumo de uma solução de álcool adoçada com sacarose antes da gestação. O álcool vai sendo adicionado de forma gradual ao longo de alguns dias, até atingir o volume pretendido. A garrafa contendo solução de álcool é disponibilizada durante algumas horas por dia e os animais consomem por livre vontade, ração e água padrão ficam disponíveis *ad libitum* (FINN et al., 2005; KAJIMOTO et al., 2013; RODRIGUEZ et al., 2016). Usando este paradigma a média de CAS alcançada fica em torno de 80 mg/dl (HAMILTON et al., 2010; SAVAGE et al., 2010; RICE et al., 2012; KAJIMOTO et al., 2013).

d) Paradigma das duas garrafas

Este paradigma pode ser considerado uma variação do modelo de consumo voluntário, onde os indivíduos possuem dois dispositivos com líquido disponível *ad libitum*, sendo um apenas com água e outro com álcool diluído. O único trabalho encontrado utilizando este modelo alcançou uma média de CAS de 178 mg/dl (BROLESE et al., 2014).

Além do fato de mimetizarem de maneira mais adequada a ingestão de álcool em seres humanos estas técnicas tem como vantagem a utilização de técnicas simples para os procedimentos de exposição o que reduz o trabalho intensivo, por parte do pesquisador, quando comparado a outros modelos. Há também menos manipulação dos animais associados a estes procedimentos (reduzindo o estresse), bem como, há menos riscos de fatalidades relacionadas aos animais (PATTEN et al., 2014).

Uma das principais desvantagens relacionadas a estes métodos é a dificuldade sobre o controle da dosagem ou tempo de exposição ao álcool, levando ao aumento da variabilidade nos níveis de CAS alcançada entre os animais de um mesmo grupo, como o consumo do álcool depende da ingestão individual de cada animal (EVRARD et al., 2003; ZHOU et al., 2008; BARBIER et al., 2009; SARI, Y., 2009; BROLESE et al., 2014; RODRIGUEZ et al., 2016). Outro fator a ser considerado é que, embora as fêmeas grávidas possam continuar expostas a esses modelos de consumo de álcool durante o período de aleitamento, é incerto o quanto de etanol pode passar para o leite materno e a atual dose de etanol consumida pelos filhotes não pode ser controlada. Fêmeas consumindo etanol durante o aleitamento podem também ser menos atentas com os filhotes e podem não se empenhar num comportamento maternal

apropriado, levando ao estresse social e nutricional. Portanto, estes modelos são normalmente usados apenas para examinar a exposição ao equivalente ao primeiro e segundo trimestres em ratos e camundongos. Como mães humanas frequentemente não sabem que estão grávidas e podem beber inadvertidamente nestes períodos, estes modelos ainda tem uma significativa legitimidade para a condição humana (PATTEN et al., 2014).

6.2.2 Rota de administração de álcool através de intubação intragástrica (gavagem)

Por este método o álcool em solução é depositado diretamente no estômago, utilizando uma seringa com uma cânula de gavagem feita em aço, ou um tubo plástico, que é inserida através do esôfago até a entrada do estômago. Esta via pode ser utilizada tanto em fêmeas gestantes, quanto em filhotes (BROCARDI et al., 2011; PATTEN et al., 2014). Este foi o modelo mais encontrado dentre as pesquisas analisadas nesta revisão sistemática e alcançou níveis de CAS bastante elevados chegando a níveis de 300 a 500 mg/dl com a utilização de doses mais elevadas entre 5 e 6 g/kg (QIANG et al., 2002; HSHIAO et al., 2003; 2004; RYAN et al., 2008; VOLGIN, D.V., 2008; McGOUGH et al., 2009).

A maior vantagem deste método de administração é a possibilidade de controle preciso da dose administrada e conseqüentemente o pico de CAS alcançado, podendo mimetizar padrões de consumo elevados como episódios denominados de “bebedeira” em humanos. Uma vantagem adicional é que o filhote neonato pode ser exposto ao álcool, permitindo estudar os efeitos da exposição ao álcool durante o terceiro trimestre equivalente, onde ocorre o pico de crescimento do cérebro (BROCARDI et al., 2011; PATTEN et al., 2014).

Dentre as desvantagens deste modelo usando intubação intragástrica (gavagem) é o fato de ser um procedimento invasivo, ocasionando aumento no estresse e maior mortalidade de animais. O tempo necessário para realização dos procedimentos diários é bastante elevado e os indivíduos que executam estes procedimentos precisam se submeter a formação específica para se tornarem competentes com relação à técnica, evitando maiores danos aos animais (PATTEN et al., 2014).

6.2.3 Rota de administração de álcool através de criação artificial com implantação de cânula gástrica

Esta via é utilizada apenas em filhotes no período neonatal inicial, equivalente ao 3º trimestre. Primeiramente os animais são anestesiados e uma cânula gástrica é implantada cirurgicamente no estômago, por onde será administrada, algumas vezes por dia, uma solução semelhante ao leite materno e, em uma ou duas destas vezes, a solução conterá etanol diluído. Os filhotes são separados de sua mãe e de sua ninhada e são alojados em um aparato semelhante a uma xícara, a qual se mantém aquecida e contém material de ninho, num esforço em mimetizar ao máximo o ambiente da gaiola e a interação com a mãe (ALLEN et al., 2009; PATTEN et al., 2014). A média dos níveis de CAS alcançada nas pesquisas analisadas ficou entre 200 e 350 mg/dl (GIRARD et al., 2002; KLINTSOVA et al., 2002; SLAWECKI et al., 2004; LEE et al., 2008; ALLEN et al., 2009).

As vantagens deste método é que pode ser usado para administrar com segurança quantidades de comida e álcool aos filhotes recém-nascidos alcançando níveis de CAS mais estáveis. Mas é um procedimento que contém muitas desvantagens, considerando que é bastante invasivo, com altos custos e isola cada filhote, removendo muitos dos fatores sociais que estão presentes durante o desenvolvimento normal do neonato, como interação com a ninhada e contato materno (GIL-MOHAPEL et al., 2010; PATTEN et al., 2014).

6.2.4 Rota de administração de álcool através de administração oral

Este modelo é comumente utilizado por equipes que trabalham com cobaias. Uma solução de água com EtOH diluído é depositada na cavidade bucal, seguida por deglutição. Ficam disponíveis ração e água padrão *ad libitum* (GREEN et al., 2005; DOBSON et al., 2012). As médias de CAS alcançadas nos trabalhos encontrados ficaram em torno de 280 mg/dl (BUTTERS et al., 2003; GREEN et al., 2005; HEWITT et al., 2011).

Dentre as vantagens observadas neste modelo estão a possibilidade de controlar a dosagem de álcool fornecida, alcançando níveis de CAS mais estáveis entre o grupo de animais; o fato de não ser um procedimento tão invasivo quanto a intubação intragástrica e também, como os modelos citados na seção 6.2.1, este modelo mimetiza a forma de ingestão em humanos.

Quanto às desvantagens podemos citar a constante manipulação dos animais; a necessidade de esforço diário por parte dos pesquisadores para administrar a solução de álcool diariamente aos animais; e o fato de ser um protocolo restrito ao modelo animal utilizando cobaias.

6.2.5 Rota de administração de álcool através de câmaras de inalação de vapor

Com este método de exposição às fêmeas gestantes e/ou filhotes neonatos, são colocados dentro de uma câmara com EtOH em forma de vapor. Normalmente os animais ficam nesta condição por várias horas diárias (GRANATO et al., 2003; HEATON et al., 2003 a e b). Este modelo chegou a níveis de CAS entre 250 e 400 mg/dl (GRANATO & PELT, 2003; JOSHI et al., 2006; WELCH et al., 2016).

Este método pode levar a um rápido e confiável aumento nos níveis de CAS sem o estresse da intubação. Também é menos trabalhoso que outros métodos, sendo que múltiplos animais podem estar na câmara ao mesmo tempo (GIL-MOHAPEL et al., 2010; PATTEN et al., 2014).

Contudo, este método de administração não mimetiza a rota de ingestão dos seres humanos e, portanto, pode não ser um modelo preciso de FASD. Além disso, a irritação do trato respiratório superior por etanol vaporizado pode ser um fator importante a se considerar. Este método é usado para expor o filhote de rato ou camundongo ao etanol durante o equivalente ao terceiro trimestre, os filhotes podem ter de ser removidos de suas mães por longos períodos de tempo o que pode resultar em reduzida ingestão de comida e estresse associado com separação, o que pode ter efeitos ao longo da vida dos filhotes (GIL-MOHAPEL et al., 2010; PATTEN et al., 2014).

6.2.6 Rota de administração de álcool através de injeção intraperitoneal ou subcutânea

A administração de álcool por meio de injeção intraperitoneal ou injeção subcutânea é frequentemente utilizada quando se quer observar resultados na exposição aguda ao álcool (ex: efeito de uma dose única em um período bem específico) (FIROZAN et al., 2014; DIAZ et al., 2016; HAMILTON et al., 2016).

Este modelo ocasiona um aumento rápido nos níveis de CAS com limitado estresse induzido por manipulação. Contudo, não se assemelha ao consumo de etanol em seres humanos e pode não ser uma réplica precisa de muitos aspectos importantes da exposição ao álcool durante o

desenvolvimento em humanos (PATTEN et al., 2014), por exemplo: injeções i.p. de álcool durante o equivalente ao primeiro trimestre em camundongos resulta numa alta incidência de malformação quando comparada com a mesma dose de etanol entregue via intubação intragástrica (WEBSTER et al., 1983).

7 CONCLUSÃO

Considera-se que não existe um único modelo animal de exposição ao álcool durante o desenvolvimento que possa se sobressair aos outros. É importante o pesquisador formular sua pergunta experimental de forma clara, o que possibilita delinear um bom protocolo experimental e escolher o modelo animal, bem como a rota de administração do álcool, que seja mais adequado a sua pesquisa.

Trabalhos cujo principal objetivo é avaliar as alterações comportamentais devem optar pela utilização de ratos, pois estes animais possibilitam análises mais sofisticadas em testes de aprendizagem, memória e funções executivas. Pesquisas cujos objetivos são avaliar influências genéticas relacionadas com FASD devem optar pela utilização de camundongos, pois estes animais são mais fáceis e confiáveis para manipulação genética. Por outro lado, estudos que pretendem avaliar a exposição ao álcool durante o desenvolvimento ao longo dos três trimestres equivalentes de forma mais similar a humanos devem optar pelo modelo animal usando cobaias, pois neste caso é possível administrar álcool ao longo dos três trimestres equivalentes com a prole *in utero*.

Estudos que visem mimetizar de forma mais fidedigna a maneira como ocorre à ingestão de álcool em seres humanos, alcançando níveis de CAS de baixos a moderados e com menos estresse por manipulação dos animais, devem optar por modelos que administrem o álcool através da água de beber, consumo voluntário, dieta líquida ou paradigma das duas garrafas. Importante salientar que estes modelos também são frequentemente utilizados para simular a ingestão de doses diárias de álcool ao longo de muitos dias, como ocorre em indivíduos alcoolistas, por exemplo.

Por outro lado, trabalhos com foco em períodos específicos e pontuais do neurodesenvolvimento, podem optar por modelos que alcancem níveis de CAS mais elevados, como injeções intraperitoneal e subcutânea ou intubação intragástrica; os quais possibilitam o controle da dose pretendida e podem ser administrados em um único dia ou através de alguns dias, simulando indivíduos que bebem de forma pontual ou mesmo uma única ocasião de consumo excessivo (bebedeira) em um dia específico da gestação, onde muitas vezes a mulher ainda não sabe que está grávida.

Além disso, muitas mulheres consomem bebidas alcoólicas no período final da gestação, muitas vezes porque acreditam que o desenvolvimento fetal já encerrou e não existe mais a necessidade de

evitar bebidas alcoólicas; ou mesmo pela cultura popular de que beber “cerveja escura” pode auxiliar na produção de leite pelo organismo. Neste sentido, pesquisas que buscam simular este padrão de exposição podem optar pela utilização da rota de administração do álcool através da câmara de inalação de vapor; criação artificial; injeções intraperitoneal e subcutânea ou intubação intragástrica; sabendo que estes modelos podem ser aplicados em filhotes de ratos e camundongos recém-nascidos (terceiro trimestre equivalente) em dias pontuais ou em uma sequência de dias, podendo alcançar níveis de CAS estáveis e bastante elevados.

Por fim, destaca-se a importância de o pesquisador conhecer os diferentes modelos animais possíveis de serem utilizados em estudos com FASD, considerando suas vantagens e desvantagens; vinculando às condições de trabalho do laboratório, bem como, às possibilidades e impasses existentes na instituição onde será realizada a pesquisa.

REFERÊNCIAS

ABOOTT, C.W.; KOZANIAN, O.O.; KANAAN, J.; WENDEL, K.M.; HUFFMAN, K.J. The impact of prenatal ethanol exposure on neuroanatomical and behavioral development in mice. **Alcohol Clin Exp Res**, v. 40 (1), p. 122-133, 2016.

ALLEN, G.C.; FARNELL, Y.Z.; MAENG, J.; WEST, J.R.; CHEN, W.J.A.; EARNEST, D.J. Long-term effects of neonatal alcohol exposure on photic reentrainment and phase-shifting responses of the activity rhythm in adult rats. **Alcohol**, v. 37 (2), p. 79-88, 2005.

ARONNE, M.P.; GUADAGNOLI, T.; FONTANET, P.; EVRARD, S.G.; BRUSCO, A. Effects of prenatal ethanol exposure on rat brain radial glia and neuroblast migration. **Exp Neurol**, v. 229, p. 364–371, 2011.

BACULIS, B.C.; DIAZ, M.R.; VALENZUELA, C.F. Third Trimester-Equivalent Ethanol Exposure Increases Anxietylike Behavior and Glutamatergic Transmission in the Basolateral Amygdala. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 137, p. 78-85, 2015.

BARBIER, E.; HOUCHI, H.; WARNAULT, V.; PIERREFICHE, O.; DAOUST, M; NAASSILA, M. Effects of prenatal and postnatal maternal ethanol on offspring response to alcohol and psychostimulants in Long Evans Rats. **Neuroscience**, v. 161, p. 427-440, 2009.

BODNAR, T.S.; HILL, L.A., WEINBERG, J. Evidence for a immune signature of prenatal alcohol exposure in female rats. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 58, p. 130-141, 2016.

BOSCHEN, K.E.; CRISS, K.J.; PALAMARCHOUK, V.; ROTH, T.L.; KLINTSOVA, A.Y. Effects of developmental alcohol exposure vs. intubation stress on BDNF and TrkB expression in the hippocampus and frontal cortex of neonatal rats. **Int J Dev Neurosci**. V. 43, p. 16-24, 2015.

BOSCHEN, K.E.; RUGGIERO, M.J.; KLINTSOVA, A.Y. Neonatal binge alcohol exposure increases microglial activation in the developing rat hippocampus. **Neuroscience**, v. 324, p. 355-366, 2016.

BRADY, M.L.; ALLAN, A.M.; CALDWELL, K.K. A Limited Access Mouse Model of Prenatal Alcohol Exposure that Produces Long-Lasting Deficits in Hippocampal-Dependent Learning and Memory. **Alcohol Clin Exp Res.**, v. 36(3), p. 457-466, 2012.

BRASIL. Lei nº 12.760, de 20 de Dezembro de 2012. Altera a Lei nº 9.503, de 23 de Setembro de 1997, que institui o Código de Trânsito Brasileiro. Disponível em: <
http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Lei/L12760.htm>. Acesso em 26 jun 2017.

BROCARD, P.S.; GIL-MOHAPEL, J.; CHRISTIE, B.R. The role of oxidative stress in fetal alcohol spectrum disorders. **Brain Research Reviews**, v. 67, p. 209-225, 2011.

BROCARD, P.S.; BOEHME, F.; PATTEN, A.; COX, A.; GIL-MOHAPEL, J.; CHRISTIE, B.R. Anxiety- and depression-like behaviors are accompanied by an increase in oxidative stress in a rat model of fetal alcohol spectrum disorders: Protective effects of voluntary physical exercise. **Neuropharmacology**, v. 62, p. 1607-1618, 2012.

BROCARD, P.S.; GIL-MOHAPEL, J.; WORTMAN, R.; NOONAN, A.; MCGINNIS, E.; PATTEN, A.R.; CHRISTIE, B.R. The Effects of Ethanol Exposure During Distinct Periods of Brain Development on Oxidative Stress in the Adult Rat Brain. **Alcoholism: clinical and experimental research**, v. 41 (1), p. 26-37, 2017.

BROLESE, G.; LUNARDI, P.; BROETTO, N.; ENGELKE, D.S.; LÍRIO, F.; BATASSINI, C.; TRAMONTINA, A.C.; GONÇALVES, C.A. Moderate prenatal alcohol exposure alters behavior and neuroglial parameters in adolescent rats. **Behavioural Brain Research**, v. 269, p. 175-184, 2014.

BUTTERS, N.S.; REYNOLDS, J.N.; BRIEN, J.F. Effects of chronic prenatal ethanol exposure on cGMP content and glutamate release in the hippocampus of the neonatal guinea pig. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 25, p. 59-68, 2003.

BYRNES, M.L.; RICHARDSON, D.P.; BRIEN, J.F.; REYNOLDS, J.N.; DRINGENBERG, H.C. Spatial acquisition in the Morris water

maze and hippocampal long-term potentiation in the adult guinea pig following brain growth spurt-prenatal ethanol exposure.

Neurotoxicology and Teratology, v. 26, p. 543–551, 2004.

CALHOUN, F.; WARREN, K. Review Fetal alcohol syndrome: Historical perspectives. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 31, p. 168–171, 2007.

CDC - Center for Disease Control and Prevention. Fetal Alcohol Spectrum Disorders (FASDs). 2014.

CHANG, G.Q.; KARATAYEV, B.S.O.; LEIBOWITZ, S.F. Prenatal exposure to ethanol stimulates hypothalamic CCR2 chemokine receptor system: Possible relation to increased density of orexigenic peptide neurons and ethanol drinking in adolescent offspring. **Neuroscience**, v. 310, p. 163–175, 2015.

CHAPPEL, T.D.; MARGRET, C.P.; LI, C.X.; WATERS, R.S. Long Term Effects of Prenatal Alcohol Exposure (PAE) on The Size of the Whisker Representation in Juvenile and Adult Rat Barrel Cortex. **Alcohol**, v. 41(4), p. 239–251, 2007.

Clarren SK, Smith DW. The fetal alcohol syndrome. **N. Engl. J. Med.**, v. 298, p. 1063–1067, 1978.

CONCEA - Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal. **Normativas do Concea para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica. Lei, Decreto, Portarias, Resoluções Normativas e Orientações Técnicas.** 3ª ed. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações: Brasília, 2016.

CUI, Z.J.; ZHAO, K.B.; ZHAO, H.J.; YU, D.M.; NIU, Y.L.; ZHANG, J.S.; DENG, J.B. PHARMACOLOGY AND CELL METABOLISM. Prenatal Alcohol Exposure Induces Long-Term Changes in Dendritic Spines and Synapses in the Mouse Visual Cortex. **Alcohol & Alcoholism**, v. 45 (4), p. 312–319, 2010.

Dani, J.A.; Harris, R.A. Nicotine addiction and comorbidity with alcohol abuse and mental illness. **Nat Neurosci**, v. 8, p. 1465–1470, 2005.

DAVID, P.; SUBRAMANIAM, K. The Effects of Prenatal Alcohol Exposure on the Morphological Characteristics of Spinal Motoneurons. **Birth Defects Research (Part A)**, v. 85, p. 791-799, 2009.

DIAZ, M.R.; MOONEY, S.M.; VARLINSKAYA, E.I. Acute prenatal exposure to ethanol on gestational day 12 elicits opposing deficits in social behaviors and anxiety-like behaviors in Sprague Dawley rats. **Behavioural Brain Research**, v. 310, p. 11-19, 2016.

DOBSON, C.C.; MONGILLO, D.L.; POKLEWSKA-KOZIELL, M.; WINTERBORN, A. Sensitivity of modified Biel-maze task, compared with Y-maze task, to measure spatial learning and memory deficits of ethanol teratogenicity in the guinea pig. **Behavioural Brain Research**, v. 233, p. 162-168, 2012.

DOKOVNA, L.B.; JABLONSKI, S.A.; STANTON, M.E. Neonatal alcohol exposure impairs contextual fear conditioning in juvenile rats by disrupting cholinergic function. **Behav Brain Res**, v. 248, p. 114-120, 2013.

DÖRRIE, N.; FÖCKER, M.; FREUNSCHT, I.; HEBEBRAND, J. Fetal alcohol spectrum disorders. **Eur Child Adolesc Psychiatry**, v. 23, p. 863-875, 2014.

DREW, P.D.; JOHNSON, J.W.; DOUGLAS, J.C.; PHELAN, K.D.; KANE, C.J.M. Pioglitazone Blocks Ethanol Induction of Microglial Activation and Immune Responses in the Hippocampus, Cerebellum, and Cerebral Cortex in a Mouse Model of Fetal Alcohol Spectrum Disorders. **Alcohol Clin Exp Res.**, v. 39 (3), p. 445-454, 2015.

EVARD, S.G.; VEJA, M.D.; RAMOS, A.J.; TAGLIEAFERRO, P.; BRUSCO, A. Altered neuron-glia interactions in low, chronic prenatal ethanol exposure. **Developmental Brain Research**, v. 147, p. 119-133, 2003.

ETHEN, M.K.; RAMADHANI, T.A.; SCHEUERLE, A.E.; CANFIELD M.A.; WYSZYNSKI, D.F.; DRUSCHEL, C.M.; ROMITTI, P.A. Alcohol consumption by women before and during pregnancy. **Matern Child Health J.**, v. 13, p.274-285, 2009.

FILGUEIRAS, C.C.; CARVALHO-RIBEIRO, A.; NUNES, F.; VILLAÇA-ABREU, Y.; MANHÃES, A.C. Early ethanol exposure in mice increases laterality of rotational side preference in the free-swimming test. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 93, p. 148-154, 2009.

FILGUEIRAS, C.C.; KRAHE, T.E.; MEDINA, A.E. Phosphodiesterase type 1 inhibition improves learning in rats exposed to alcohol during the third trimester equivalent of human gestation. **Neurosci Lett.**, v. 473(3), p. 202–207, 2010.

FINN, D.A.; BELKNAP, J.K.; CRONISE, K.; YONEYAMA, N.; MURILLO, A.; CRABE, J.C. A procedure to produce high alcohol intake in mice. **Psychopharmacology**, v. 178, p. 471-480, 2005.

FIORE, M.; LAVIOLA, G.; ALOE, L.; FAUSTO, V.; MANCINELLI, R.; CECCANTI, M. Early exposure to ethanol but not red wine at the same alcohol concentration induces behavioral and brain neurotrophin alterations in young and adult mice. **NeuroToxicology**, v. 30, p. 59-71, 2009.

FIROZAN, B.; GOUDARZI, I.; SALMANI, M.E.; LASHKARBOLOUKI, T.; REZAEI, A.; ABRARI, K. Estradiol increases expression of the brain-derived neurotrophic factor after acute administration of ethanol in the neonatal rat cerebellum. **Europa Journal of Pharmacology**, v. 732, p. 1-11, 2014.

FLOYD, R.L.; WEBER, M.K.; DENNY, C.; O'CONNOR, M.J. Prevention of fetal alcohol spectrum disorders. **Dev Disabil Res Rev**, v. 15, p. 93–199, 2009.

GARCIA, R.; ROSSI, N.F.; GIACGETI, C.M. Perfil de habilidades de comunicação de dois irmãos com a Síndrome Alcoólica Fetal. **Ver. CEFAC**. V. 9 (4), p. 461-468, 2007.

GIL-MOHAPPEL, J.; BOEHME, F.; KAINER, L.; CHRISTIE, B.R. Hippocampal cell loss and neurogenesis after fetal alcohol exposure: Insights from different rodent models. **Brain Research Reviews**, v. 64, p. 283-303, 2010.

GIL-MOHAPEL, J.; BOEHME, F.; PATTEN, A.; COX, A.; KAINER, L.; GILES, E.; BROCARD, P.S.; CHRISTIE, B.R. Altered adult hippocampal neuronal maturation in a rat model of fetal alcohol syndrome. **Brain Research**, v. 1384, p. 29-41, 2011.

GIRARD, T.A.; WAINWRIGHT, P.E. Testing the spatial- versus object-learning distinction: water-maze performance of male rats exposed to ethanol during the brain growth spurt. **Behavioural Brain Research**, v. 134, 493-503, 2002.

GRANATO, A.; PELT, J.V. Effects of early ethanol exposure on dendrite growth of cortical pyramidal neurons: inferences from a computational model. **Developmental Brain Research**, v. 142, p. 223-227, 2003.

GREEN, C.R.; KOBUS, S.M.; JI, Y.; BENNETT, B.M.; REYNOLDS, J.N.; BRIEN, J.F. Chronic prenatal ethanol exposure increases apoptosis in the hippocampus of the term fetal guinea pig. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 27, p. 871-881, 2005.

GRINFELD, H.; GOLDENBERG, S.; SEGRE, C.A.M.; CHADI, G. Fetal alcohol syndrome in São Paulo, Brazil. **Paediatric and Perinatal Epidemiology**. V. 13, p. 496-497, 1999.

GRINFELD, H. Consumo nocivo de álcool durante a gravidez. **Álcool e suas consequências: uma abordagem multiconceitual**. Org. Andrade, A.G.; Anthony, J.C.; Silveira, C.M. Barueri, SP: Minha Editora, 2009.

HAMILTON, D.A.; AKERS, K.G.; RICE, J.P.; JOHNSON, T.E.; CANDELARIA-COOK, F.T.; MAES, L.I.; ROSEMBERG, M.; VALENZUELA, F.; SAVAGE, D.D. Prenatal exposure to moderate levels of ethanol alters social behavior in adult rats: Relationship to structural plasticity and immediate early gene expression in frontal cortex. **Behav Brain Res.**, v. 207(2), p. 290, 2010.

HAMILTON, G.F.; MURAWSKI, N.J.; CYR, S.A.S.; JABLONSKI, S.A.; SCHIFFINO, F.L.; STANTON, M.E.; KLINTSOVA, A.Y. Neonatal alcohol exposure disrupts hippocampal neurogenesis and contextual fear conditioning in adult rats. **Brain Res.**, v. 1412, p. 88-101, 2011.

HAMILTON, G.F.; BOSCHEN, K.E.; GOODLETT, C.R.; GREENOUGH, W.T.; KLINTSOVA, A.Y. Housing in Environmental Complexity Following Wheel Running Augments Survival of Newly-Generated Hippocampal Neurons in a Rat Model of Binge Alcohol Exposure during the Third Trimester Equivalent. **Alcohol Clin Exp Res.**, v. 36(7), p. 1196–1204, 2012.

HAMILTON, G.F.; CRISS, K.J.; KLINTSOVA, A.Y. Voluntary Exercise Partially Reverses Neonatal Alcohol-Induced Deficits in mPFC Layer II/III Dendritic Morphology of Male Adolescent Rats. **Synapse**, v. 69(8), p. 405–415, 2015.

HAMILTON, G.F.; BUCKO, P.J.; MILLER, D.S.; DeANGELIS, R.S.; KREBS, C.P.; RHODES, J.S. Behavioral deficits induced by third-trimester equivalent alcohol exposure in male C57BL/6j mice are not associated with reduced adult hippocampal neurogenesis but are still rescued with voluntary exercise. **Behavioural Brain Research**, v. 314, p. 96-105, 2016.

HEATON, M.B.; PAIVA, M.; MAYER, J.; MILLER, R. Ethanol-mediated generation of reactive oxygen species in developing rat cerebellum. **Neuroscience Letters**, v. 334, p. 83–86, 2002.

HEATON, M.B.; PAIVA, M.; MADORSKY, I.; SHAW, G. Research report Ethanol effects on neonatal rat cortex: comparative analyses of neurotrophic factors, apoptosis-related proteins, and oxidative processes during vulnerable and resistant periods. **Developmental Brain Research**, v. 145, p. 249–262, 2003 (a).

HEATON, M.B.; PAIVA, M.; MADORSKY, I.; MAYER, J.; MOORE, D.B. Effects of ethanol on neurotrophic factors, apoptosis-related proteins, endogenous antioxidants, and reactive oxygen species in neonatal striatum: relationship to periods of vulnerability. **Developmental Brain Research**, v. 140, p. 237–252, 2003 (b).

HELPER, J.L.; GOODLETT, C.R.; GREENOUGH, W.T.; KLINTSOVA, A.Y. The Effects of Exercise on Adolescent Hippocampal Neurogenesis in a Rat Model of Binge Alcohol Exposure During the Brain Growth Spurt. **Brain Res.**, v. 1294, p. 1–11, 2009.

HELLEMANS, K.G.C.; SLIWOWSKA, J.H.; VERMA, P.; WEINBERG, J. Prenatal alcohol exposure: Fetal programming and later life vulnerability to stress, depression and anxiety disorders. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 34, p. 791-807, 2010.

HEWITT, A.J.; KNUFF, A.L.; JEFKINS, M.J.; COLLIER, C.P.; REYNOLDS, J.N.; BRIEN, J.F. Chronic ethanol exposure and folic acid supplementation: Fetal growth and folate status in the maternal and fetal guinea pig. **Reproductive Toxicology**, v. 31, p. 500-506, 2011.

HSIAO, S.H.; FRYE, G. A MPA receptors on developing medial septum/diagonal band neurons are sensitive to early postnatal binge-like ethanol exposure. **Developmental Brain Research**, v. 142, P. 89–99, 2003.

HSIAO, S.H.; DuBOIS, D.W.; MIRANDA, R.C.; FRYE, G.D. Critically timed ethanol exposure reduces GABAAR function on septal neurons developing in vivo but not in vitro. **Brain Research**, v. 1008, p. 69-80, 2004.

IQBAL, U.; DRINGENBERG, H.C.; BRIEN, J.F.; REYNOLDS, J.N. Chronic prenatal ethanol exposure alters hippocampal GABAA receptors and impairs spatial learning in the guinea pig. **Behavioural Brain Research**, v. 150, P. 117–125, 2004.

ISAYAMA, R.N.; LEITE, P.E.; LIMA, J.P.; UZIEL, D.; YAMASAKI, E.N. Impact of ethanol on the developing GABAergic system. **Anat Rec (Hoboken)**, v. 292, p. 1922–1939, 2009.

JONES, K.L.; SMITH, D.W. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. **Lancet**, v. 302, p. 999-1001, 1973.

JONES, K.L.; SMITH, D.W.; ULLELAND, C.N.; STREISSGUTH, P. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. **Lancet**, v. 1, p. 1267-1271, 1973.

JOSHI, S.; GULERIA, R.S.; PAN, J.; BAYLESS, K.J.; DAVIS, G.E.; DiPIETTE, D.; SINGH, U.S. Ethanol impairs Rho GTPase signaling and differentiation of cerebellar granule neurons in a rodent model of fetal alcohol syndrome. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 63, P. 2859–2870, 2006.

KAJIMOTO, K.; ALLAN, A.; CUNNINGHAM, L.A. Fate Analysis of Adult Hippocampal Progenitors in a Murine Model of Fetal Alcohol Spectrum Disorder (FASD). **PLOS ONE**, v. 8 (9), 2013.

KLINTSOVA, A.Y.; SCAMRA, C.; HOFFMAN, M.; NAPPER, R.M.A.; GOODLETT, C.R.; GREENOUGH, W.T. Therapeutic effects of complex motor training on motor performance deficits induced by neonatal binge-like alcohol exposure in rats: II. A quantitative stereological study of synaptic plasticity in female rat cerebellum. **Brain Research**, v. 937, P. 83–93, 2002.

KUMRAL, A.; TUGYAN, K.; GONENC, S.; GENÇ, K.; GENÇ, S.; SONMEZ, U.; YILMAZ, O.; DUMAN, N.; UYSAL, N.; OZKAN, H. Protective effects of erythropoietin against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and oxidative stress in the developing C57BL/6 mouse brain. **Developmental Brain Research**, v. 160, p. 146-156, 2005.

LAN, N.; YAMASHITA, F.; HALPERT, A.G.; SLIWOWSKA, J.H.; VIAU, V.; WEINBERG, J. Effects of Prenatal Ethanol Exposure on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Function Across the Estrous Cycle. **Alcohol Clin Exp Res.**, v. 33 (6), p. 1075–1088, 2009.

LANTZ, C.L.; WANG, W.; MEDINA, A.E. Early Alcohol Exposure Disrupts Visual Cortex Plasticity in Mice. **Int J Dev Neurosci.**, v. 30(5), p. 351–357, 2012.

LAWRENCE, R.C.; BONNER, H.C.; NEWSOM, R.J.; KELLY, S.J. Effects of alcohol exposure during development on play behavior and c-Fos expression in response to play behavior. **Behav Brain Res.**, v. 188 (1), p. 209–218, 2008.

LAWRENCE, R.C.; OTERO, N.K.H.; KELLY, S.J. Selective Effects of Perinatal Ethanol Exposure in Medial Prefrontal Cortex and Nucleus Accumbens. **Neurotoxicol Teratol.**, v. 34(1), p. 128–135, 2012.

LEE, Y.; ROWE, J.; ESKUE, K.; WEST, J.R.; MAIER, S.E. Alcohol exposure on postnatal day 5 induces Purkinje cell loss and evidence of Purkinje cell degradation in lobule I of rat cerebellum. **Alcohol**, v. 42, p. 295-302, 2008.

LEIGLAND, L.A.; FORD, M.M.; LERCH, J.P.; KROENKE, C.D. The Influence of Fetal Ethanol Exposure on Subsequent Development of the Cerebral Cortex as Revealed by Magnetic Resonance Imaging. **Alcohol Clin Exp Res.**, v. 37(6), p. 924–932, 2013.

LEWIS, B.; WELLMAN, K.A.; BARRON, S. Agmatine Reduces Balance Deficits In a Rat Model Of Third Trimester Binge-Like Ethanol Exposure. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 88(1), p. 114–121, 2007.

LI, H.; CHEN, J.; QI, Y.; DAI, L.; ZHANG, M.; FRANK, J.A.; HANDSHOE, J.W.; CUI, J.; XU, W.; CHEN, G. Deficient PKR in RAX/PKR Association Ameliorates Ethanol-Induced Neurotoxicity in the Developing Cerebellum. **Cerebellum**, v. 14(4), p. 386–397, 2015.

LICONA, H.K.; KARACAY, B.; MAHONEY, J.; McDONALD, E.; LUANG, T.; BONTHIUS, D.J. A single exposure to alcohol during brains development induces microencephaly and neuronal losses in genetically susceptible mice, but not in wild type mice. **NeuroToxicology**, v. 30, p. 459-470, 2009.

LINDQUIST, D.H. Hippocampal-dependent Pavlovian conditioning in adult rats exposed to binge-like doses of ethanol as neonates. **Behavioural Brain Research**, v. 242, p. 191-199, 2013, (a).

LINDQUIST, D.H.; SOKOLOFF, G.; MILNER, E.; STEINMETZ, J.E. Neonatal ethanol exposure results in dose-dependent impairments in the acquisition and timing of the conditioned eyeblink response and altered cerebellar interpositus nucleus and hippocampal CA1 unit activity in adult rats. **Alcohol**, v. 47(6), p. 447–457, 2013, (b).

LIVY, D.J.; MILLER, E.K.; MAIER, S.E.; WEST, J.R. Fetal alcohol exposure and temporal vulnerability: effects of binge-like alcohol exposure on the developing rat hippocampus. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 25, p. 447-458, 2003.

LIVY, D.J.; ELBERGER, A.J. Alcohol exposure during the first two trimesters equivalent alters the development of corpus callosum projection neurons in the rat. **Alcohol**, v. 42(4), p. 285–293, 2008.

LUGO JR, J.N.; MARINO, M.D.; CRONISE, K.; KELLY, S.J. Effects of alcohol exposure during development on social behavior in rats. **Physiology & Behavior**, v. 78, p. 185–194, 2003.

LUGO JR, J.N.; WILSON, M.A.; KELLY, S.J. Perinatal ethanol exposure alters met-enkephalin levels of male and female rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 28, p. 238–244, 2006.

MAIER S.E.; WEST J.R. Drinking patterns and alcohol-related birth defects. **Alcohol Res Health**. V. 25 (3), 168–74, 2001.

MANCINELLI, R.; BINETTI, R.; CECCANTI, M. Female drinking environmental biological markers. **Ann Ist. Super. Sanita.**, v. 42, p. 31–8, 2006.

MAY, P.A.; GOSSAGE, J.P.; KALBERG, W.O.; ROBINSON, L.K.; BUCKLEY, D.; MANNING, M.; HOYME, H.E. Prevalence and epidemiologic characteristics of FASD from various research methods with an emphasis on recent in-school studies. **Dev Disabil Res Rev**, v. 15(3), p. 176–192, 2009.

MARCHE, K.; DANIEL, T.; BORDET, R. Fetal alcohol-induced hyperactivity is reversed by treatment with the PPAR α agonist fenofibrate in a rat model. **Psychopharmacology**, v. 214, p. 285–296, 2011.

MARGRET, C.P.; LI, C.X.; ELBERGER, A.J.; MATTA, S.G.; CHAPPELL, T.D.; WATERS, R.S. Prenatal alcohol exposure alters the size, but not the pattern, of the whisker representation in neonatal rat barrel cortex. **Exp Brain Res.**, v. 165, p. 167–178, 2005.

MARINO, M.D.; AKSENOV, M.Y.; KELLY, S.J. Vitamin E protects against alcohol-induced cell loss and oxidative stress in the neonatal rat hippocampus. **Int. J. Devl Neuroscience**, v. 22, p. 363–377, 2004.

McADAM, T.D.; BRIEN, J.F.; REYNOLDS, J.N.; DRINGENBERG, H.C. Altered water-maze search behavior in adult guinea pigs following prenatal ethanol exposure: Lack of mitigation by postnatal fluoxetine treatment. **Behavioural Brain Research**, v. 191, p. 202–209, 2008.

McGOUGH, N.N.H.; THOMAS, J.D.; DOMINGUEZ, H.D.; RILEY, E.P. Insulin-like growth factor-I mitigates motor coordination deficits

associated with neonatal alcohol exposure in rats. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 31, p. 40-48, 2009.

MILLER, M.W. Effect of early exposure to ethanol on the protein and DNA contents of specific brain regions in the rat. **Brain Res**, v.734, p. 286–294, 1996.

MOULDER, K.L.; FU, T.; MELBOSTAD, H.; CORMIER, R.J.; ISENBERG, K.E.; ZORUMSKI, C.F.; MENNERICK, S. Ethanol-induced death of postnatal hippocampal neurons. **Neurobiol Dis**, v. 10, p. 396–409, 2002.

MURAWSKI, N.J. & STANTON, M.E. Variants of contextual fear conditioning are differentially impaired in the juvenile rat by binge ethanol exposure on postnatal days 4–9. **Behav Brain Res.**, v. 212 (2), p. 133–142, 2010.

MURAWSKI, N.J.; KLINTSOVA, A.Y.; STANTON, M.E. Neonatal alcohol exposure and the hippocampus in developing male rats: effects on behaviorally induced CA1 c-Fos expression, CA1 pyramidal cell number, and contextual fear conditioning. **Neuroscience**, v. 206, p. 89–99, 2012.

MURAWSKI, N.J.; MOORE, E.M.; THOMAS, J.D.; RILEY, E.P. Advances in Diagnosis and Treatment of Fetal Alcohol Spectrum Disorders. **Alcohol Research: Current Reviews**, v. 37, n. 1, p. 97-108, 2015.

NASH, C.M.; IBRAM, F.; DRINGENBERG, H.C.; REYNOLDS, J.N.; BRIEN, J.F. Effects of maternal administration of vitamins C and E on ethanol neurobehavioral teratogenicity in the guinea pig. **Alcohol**, v. 41, p. 577-586, 2007.

NIRGUDKAR, P; TAYLOR, D.H.; YANAGAWA, Y.; VALENZUELA, C.F. Ethanol during development reduces GABAergic/glycinergic neuron numbers and lobulo volumes in the mouse cerebellar vermis. **Neuroscienc Letters**, v. 632, p. 86-91, 2016.

NUNES, F.; FERREIRA-ROSA, K.; PEREIRA, M.S.; KUBRUSLY, R.C.; MANHÃES, A.C.; ABREU-VILLAÇA, Y; FILGUEIRAS, C. Acute administration of vinpocetine, a phosphodiesterase type 1

inhibitor, ameliorates hyperactivity in a mice model of fetal alcohol spectrum disorder. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 119, p. 81-87, 2011.

O'LEARY-MOORE, S.K.; McMECHAN, A.P.; MATHISON, S.N.; BERMAN, R.F.; HANNIGAN, J.H. Reversal learning after prenatal or early postnatal alcohol exposure in juvenile and adult rats. **Alcohol**, v. 38, p. 99-110, 2006.

O'LEARY-MOORE, S.K.; PARNELL, S.E.; GODIN, E.A.; DEHART, D.B.; AMENT, J.J.; KHAN, A.A.; JOHNSON, G.A.; STYNER, M.A.; SULIK, K.K. Magnetic resonance microscopy-based analyses of the brains of normal and ethanol-exposed fetal mice. **Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.**, v. 88 (11), p. 953–964., 2010.

PARNELL, S.E.; O'LEARY-MOORE, S.K.; GODIN, E.A.; DEHART, D.B.; JOHNSON, B.W.; JOHNSON, G.A.; STYNER, M.A.; SULIK, K.K. Magnetic Resonance Microscopy Defines Ethanol-Induced Brain Abnormalities in Prenatal Mice: Effects of Acute Insult on Gestational Day 8. **Alcohol Clin Exp Res.**, v. 33 (6), p. 1001–1011, 2009.

PATTEN, A.R.; FONTAINE, C.J.; CHRISTIE, B.R. A comparison of the different animal models of fetal alcohol spectrum disorders and their use in studying complex behaviors. **Frontiers in Pediatrics**, v. 2, p. 1-19, 2014.

PERKINS, A.E.; FADEL, J.R.; KELLY, S.J. The effects of postnatal alcohol exposure and galantamine on the context pre-exposure facilitation effect and acetylcholine efflux using *in vivo* microdialysis. **Alcohol**, v. 49, p. 193-205, 2015.

PONS-VÁZQUEZ, S.; GALLEGO-PINAZO, R.; GALBIS-ESTRADA, C.; ZANON-MORENO, V.; GARCIA-MEDINA, J.J.; VILA-BOU, V.; SANZ-SOLANA, P.; PINAZO-DURÁN, M.D. GENETICS AND CELL BIOLOGY. Combined Pre- and Postnatal Ethanol Exposure in Rats Disturbs the Myelination of Optic Axons. **Alcohol and Alcoholism**, v. 46 (5), p. 514–522, 2011.

POPOVA, S.; LANGE, S.; BURD, L.; CHUDLEY, A.E.; CLARREN, S.K.; REHM, J. Cost of Fetal Alcohol Spectrum Disorder Diagnosis in Canada. **PLoS ONE**, v. 8(4), 2013.

QIANG, M.; WANG, M.W.; ELBERGER, A.J. Second trimester prenatal alcohol exposure alters development of rat corpus callosum. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 24, p. 719–732, 2002.

RAINEKI, C.; CHEW, L.; MOK, P.; ELLIS, L.; WEINBERG, J. Short- and long-term effects of stress during adolescence on emotionality and HPA function of animals exposed to alcohol prenatally. **Psychoneuroendocrinology**, v. 74, p. 13-23, 2016.

REDILA, V.A.; OLSON, A.K.; SWANN, S.E.; MOHADES, G.; WEBBER, A.J.; WEINBERG, J.; CHRISTIE, B.R. Hippocampal Cell Proliferation Is Reduced Following Prenatal Ethanol Exposure But Can Be Rescued With Voluntary Exercise. **Hippocampus**, v. 16, p. 305–311, 2006.

RILEY, E.P.; MCGEE, C.L. Fetal alcohol spectrum disorders: an overview with emphasis on changes in brain and behavior. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 230, p. 357–365, 2005.

RICE, J.P.; SUGGS, L.E.; LUSK, A.V.; PARKER, M.O.; CANDELARIA-COOK, F.T.; AKERS, K.G.; SAVAGE, D.D.; HAMILTON, D.A. Effects of exposure to moderate levels of ethanol during prenatal brain development on dendritic length, branching, and spine density in the nucleus accumbens and dorsal striatum of adult rats. **Alcohol**, v. 46, p. 577-584, 2012.

RN33 – Resolução Normativa nº 33. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. **Diário Oficial da União**. Seção 1, nº 222, p. 5, 21 de novembro de 2016.

ROBERTSON, J.M.; HARDING, S.; GRUPP, L.A. Bradykinin suppresses alcohol intake and plays a role in the suppression produced by an ACE inhibitor. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 46, p. 751–758, 1993.

RODRIGUEZ, C.I.; MAGCALAS, C.M.; BARTO, D.; FINK, B.C.; RICE, J.P.; BIRD, C.W.; DAVIS, S.; PENTKOWSKI, N.S.; SAVAGE, D.D.; HAMILTON, D.A. Effects of sex and housing on social, spatial, and motor behavior in adult rats exposed to moderate levels of alcohol

during prenatal development. **Behavioural Brain Research**, v. 313, p. 233-243, 2016.

RYAN, S.H.; WILLIAMS, J.K.; THOMAS, J.D. Choline supplementation attenuates learning deficits associated with neonatal alcohol exposure in the rat: Effects of varying the timing of choline administration. **Brain Research**, v. 1237, p. 91-100, 2008.

SANDRIAN, B.; SUBBANNA, S.; WILSON, D.A.; BASAVARAJAPPA, B.S.; SAITO, M. Lithium prevents long-term neural and behavioral pathology induced by early alcohol exposure. **Neuroscience**, v. 206, p. 122–135, 2012.

SANDRIAN, B.; LOPEZ-GUZMAN, M.; WILSON, D.A.; SAITO, M. Distinct neurobehavioral dysfunction based on the timing of developmental binge-like alcohol exposure. **Neuroscience**, v. 0, p. 204–219, 2014.

SANTOS, B.F. Modelo Animal. *In*: ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; e OLIVEIRA, R.S.; orgs. **Animais de Laboratório: criação e experimentação** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002.

SARI, Y. Activity-dependent neuroprotective protein-derived peptide, NAP, preventing alcohol-induced apoptosis in fetal brain of C57BL/6 mouse. **Neuroscience**, v. 158, p. 1426-1435, 2009.

SARI, Y.; WEEDMAN, J.M.; GE, S. Activity-dependent neurotrophic factor-derived peptide prevents alcohol-induced apoptosis, in part, through bcl2 and c-jun n-terminal kinase signaling pathways in fetal brain of C57BL/6 mouse. **Neuroscience**, v. 202, p. 465-473, 2012.

SAVAGE, D.D.; ROSENBERG, M.J.; WOLFF, C.R.; AKERS, K.G.; EL-EMAWY, A.; STAPLES, M.C.; VARASCHIN, R.K.; WRIGHT, C.A.; SEIDEL, J.L.; CALDWELL, K.K.; HAMILTON, D.A. Effects of a Novel Cognition-Enhancing Agent on Fetal Ethanol-Induced Learning Deficits. **Alcohol Clin Exp Res.**, v. 34(10), p. 1793–1802, 2010.

SCHAMBRA, U.B.; GOLDSMITH, J.; NUNLEY, K.; LIU, Y.; HARIRFOROOSH; SCHAMBRA, H.M. Low and moderate prenatal ethanol exposures of mice during gastrulation or neurulation delays

neurobehavioral development. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 51, p.1-11, 2015.

SCHREIBER, W.B.; CYR, S.A.St.; JABLONSKI, S.A.; HUNT, P.S.; KLINTSOVA, A.Y.; STANTON, M.E. Effects of Exercise and Environmental Complexity on Deficits in Trace and Contextual Fear Conditioning Produced by Neonatal Alcohol Exposure in Rats. **Dev Psychobiol.**, v. 55 (5), p. 483–495, 2013.

SILER-MARSIGLIO, K.I.; PAIVA, M.; MADORSKY, I.; PAN, Q.; SHAW, G.; HEATON, M.B. Functional Mechanisms of Apoptosis Related Proteins in Neonatal Rat Cerebellum Are Differentially Influenced by Ethanol at Postnatal Days 4 and 7. **Journal of Neuroscience Research**, v. 81, p. 632–643, 2005.

SLAWECKI, C.J.; THOMAS, J.D.; RILEY, E.P.; EHLERS, C.L. Neurophysiologic consequences of neonatal ethanol exposure in the rat. **Alcohol**, v. 34, p. 187-196, 2004.

SLIWOWSKA, J.H.; LAN, N.; YAMASHITA, F.; HALPERT, A.G.; VIAU, V.; WEINBERG, J. Effects of prenatal ethanol exposure on regulation of basal hypothalamic-pituitary-adrenal activity and hippocampal 5-HT1A receptor mRNA levels in female rats across the estrous cycle. **Psychoneuroendocrinology**, v. 33, p. 1111-1123, 2008.

SOBRIAN, S.K.; JONES, B.L.; JAMES, H.; KAMARA, F.N.; HOLSON, R.R. Prenatal ethanol preferentially enhances reactivity of the dopamine D1 mas não D2 ou D3 receptors in offspring. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 27, p. 73-93, 2005.

STETTNER, G.M.; KUBIN, L.; VOLGIN, D.V. Loss of motoneurons in the ventral compartment of the rat hypoglossal nucleus following early postnatal exposure to alcohol. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 52, p. 87-94, 2013.

STREISSGUTH, A.P.; BARR, H.M.; BOOKSTEIN, F.L.; SAMPSON, P.D.; OLSON, H.C. The long-term neurocognitive consequences of prenatal alcohol exposure: a 14-year study. **Psychol Sci.**, v. 10, p.186–190, 1999.

STROMLAND, K. Visual impairment and ocular abnormalities in children with fetal alcohol syndrome. **Addict Biol**, v. 9, p. 153–160, 2004.

SULIK, K.K.; JOHNSTON, M.C.; WEBB, M.A. Fetal alcohol syndrome: embryogenesis in a mouse model. **Science**, v. 214, p. 936–938, 1981.

TITTERNESS, A.K.; CHRISTIE, B.R. Prenatal Ethanol Exposure Enhances NMDAR-Dependent Long-Term Potentiation in the Adolescent Female Dentate Gyrus. **Hippocampus**, v. 22, p. 69–81, 2012.

TRAN, T.D.; KELLY, S.J. Critical periods for ethanol-induced cell loss in the hippocampal formation. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 25, p. 519-528, 2003.

UBAN, K.A.; SLIWOWSKA, J.H.; LIEBLICH, S.; ELLIS, L.A.; YU, W.K.; WEINBERG, J. Prenatal alcohol exposure reduces the proportion of newly produced neurons and glia in the dentate gyrus of the hippocampus in female rats. **Hormones and Behavior**, v. 58, p. 835-843, 2010.

VOLGIN, D.V. Perinatal alcohol exposure leads to prolonged upregulation of hypothalamic GABA_A receptors and increases behavioral sensitivity to gaboxadol. **Neuroscience Letters**, v. 439, p. 182-186, 2008.

XIE, N.; YANG, Q.; CHAPPELL, T.D.; LI, C.X.; WATERS, R.S. Prenatal alcohol exposure reduces the size of the forelimb representation in motor cortex in rat: na intracortical microstimulation (ICMS) mapping study. **Alcohol**, v. 44, p. 185-194, 2010.

WANG, L.; WU, L.; WANG, X.; DENG, J.; MA, Z.; FAN, W.; HE, W.; DENG, J. Prenatal alcohol exposure inducing the apoptosis of mossy cells in hippocampus of SMS2^{-/-} mice. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 40, p. 975-982, 2015.

WEBSTER, W.S.; WALSH, D.A.; McEWEN, S.E.; LIPSON, A.H. Some teratogenic properties of ethanol and acetaldehyde in C57BL/6J mice: implications for the study of the fetal alcohol syndrome. **Teratology**, v. 27 (2), p. 231–243.

WELCH, J.H.; MAYFIELD, J.J.; LEIBOWITZ, A.L.; BACULIS, B.C.; VALENZUELA, C.F. Third Trimester-Equivalent Ethanol Exposure Causes Micro-Hemorrhages in the Rat Brain. **Neuroscience**, v. 324, p. 107-118, 2016.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report alcohol and health**. 2014. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763_eng.pdf?ua=1>. Acesso em: 17 abr 2017.

WIJAYAWARDHANE, N.; SHONESY, B.C.; VAGLENOVA, J.; VAITHIANATHAN, T.; CARPENTER, M.; BREESE, C.R.; DITYATEV, A.; SUPPIRAMANIAM, V. Postnatal aniracetam treatment improves prenatal ethanol induced attenuation of AMPA receptor-mediated synaptic transmission. **Neurobiology of Disease**, v. 26, p. 696-706, 2007.

WIJAYAWARDHANE, N.; SHONESY, B.C.; VAITHIANATHAN, T.; PANDIELLA, N.; VAGLENOVA, J.; BREESE, C.R.; DITYATEV, A.; SUPPIRAMANIAM, V. Ameliorating effects of preadolescent aniracetam treatment on prenatal ethanol-induced impairment in AMPA receptor activity. **Neurobiology of Disease**, v. 29, p. 81-91, 2008.

WOZNIAK, D.F.; HARTMAN, R.E.; BOYLE, M.P.; VOGT, S.K.; BROOKS, A.R.; TENKOVA, T.; YOUNG, C.; OLNEY, J.W.; MUGLIA, L.J. Apoptotic neurodegeneration induced by ethanol in neonatal mice is associated with profound learning/memory deficits in juveniles followed by progressive functional recovery in adults. **Neurobiology of Disease**, v. 17, p. 403-414, 2004.

YOUNG, C.; OLNEY, J.W. Neuroapoptosis in the infant mouse brain triggered by a transient small increase in blood alcohol concentration. **Neurobiology of Disease**, v. 22, p. 548-554, 2005.

ZHOU, F.C.; FANG, Y.; GOODLETT, C. Peptidergic Agonists of Activity-Dependent Neurotrophic Factor Protect Against Prenatal Alcohol-Induced Neural Tube Defects and Serotonin Neuron Loss. **Alcohol Clin Exp Res.**, v. 32 (8), p. 1361-1371, 2008.

ZHOU, R.; WANG, S.; ZHU, X. Prenatal Ethanol Exposure Attenuates GABAergic Inhibition in Basolateral Amygdala Leading to Neuronal Hyperexcitability and Anxiety-Like Behavior of Adult Rat Offspring. **Neuroscience**, v. 170, p. 749-757, 2010.