

## Diferencias sexuales en el efecto de privación alcohólica en ratas

David García-Burgos, Tatiana Manrique Zuluaga\*, Milagros Gallo Torre y Felisa González Reyes  
Universidad de Granada y \* Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud

Son escasos los estudios que han investigado la relación entre edad de inicio en el consumo de alcohol a edades tempranas y riesgo de recaída en la adultez, que puede además ser mayor en hembras según revelan estudios con ratas. El presente estudio evalúa el efecto de privación alcohólica (ADE en inglés) en ratas adultas de ambos sexos que comenzaron la ingesta alcohólica durante la preadolescencia o adolescencia. Durante las exposiciones recibieron libre acceso a agua y a soluciones de etanol al 5, 10 y 20% (v/v). Los efectos de la edad y sexo sobre el ADE en ratas adultas se evaluaron tras repetidos períodos de abstinencia. Los resultados mostraron que solo las hembras incrementaron el consumo de etanol tras la segunda y tercera privación (mostrando ADE), con independencia de la edad de inicio de consumo.

*Sex differences in the alcohol deprivation effect in rats.* Few studies have investigated the relationship between early onset of alcohol drinking and relapse in adulthood, which may be larger in females, as revealed by studies using rats as subjects. The present study assesses the alcohol deprivation effect (ADE) in adult rats of both sexes that began alcohol consumption during preadolescence or adolescence. Female and male Wistar rats received free-choice access to water, 5, 10 and 20% (v/v) ethanol solutions during the ethanol exposures. The effects of age and sex on ADE in adult rats were assessed after repeated periods of abstinence. The results showed that female but not male rats increased ethanol intake after the second and third deprivation (showing ADE), irrespective of the onset-age of alcohol drinking.

Los estudios epidemiológicos sugieren que la ingesta de alcohol a edades tempranas se asocia con un incremento en el riesgo de desarrollar trastornos por consumo de alcohol en la edad adulta (Grant y Dawson, 1997). El inicio del consumo durante la preadolescencia y la adolescencia temprana (11-14 años) incrementa la vulnerabilidad de abuso y dependencia del alcohol (DeWit, Adlaf, Offord y Osborne, 2000). La investigación en humanos ha evaluado la influencia de la edad de inicio de la ingesta alcohólica sobre diferentes fases en el abuso de sustancias, especialmente durante la escalada del uso o la adicción (Prescott y Kendler, 1999). Sin embargo, pocos estudios han explorado el efecto de la exposición alcohólica durante el desarrollo temprano (preadolescencia y adolescencia) sobre el efecto de privación alcohólica en la adultez en situaciones de consumo controlado que no impliquen adicción (Hingson, Heeren y Winter, 2006).

Los modelos animales de consumo de alcohol suponen una útil herramienta de investigación para examinar los efectos de la exposición temprana a etanol en las distintas fases de uso y abuso de drogas desde una perspectiva experimental. Así, el efecto de privación de alcohol (ADE, *Alcohol Deprivation Effect*) resulta de interés en el estudio de la conducta de recaída y de *craving* en ani-

males (Rodd-Henricks et al., 2000) durante el consumo de alcohol voluntario en ausencia de adicción. El ADE se ha definido como un incremento temporal en el consumo voluntario de etanol sobre las condiciones basales de ingesta cuando es reinstaurado tras un período de privación alcohólica (Sinclair y Senter, 1967). Se ha demostrado que ratas que iniciaron el consumo de etanol durante la adolescencia mostraban un ADE tras un período de 8 semanas de acceso al alcohol y 2 semanas de privación (Füllgrabe, Vengeliene y Spanagel, 2007; Siegmund, Vengeliene, Singer y Spanagel, 2005). García-Burgos, González, Manrique y Gallo (2009) encontraron un ADE no modulado por el sexo en la preferencia por el etanol, pero no en consumo, en ratas Wistar adolescentes expuestas durante 10 días y evaluadas tras un período de 7 días de abstinencia, mientras que ratas Wistar adultas bajo las mismas condiciones procedimentales mostraron un ADE tanto en preferencia como en consumo de etanol. Hasta donde conocemos, no existen trabajos que evalúen el ADE en ratas adultas que inicien el consumo de alcohol en la preadolescencia y adolescencia bajo condiciones de acceso continuo y voluntario.

El primer objetivo del presente estudio es evaluar el ADE en ratas heterogéneas adultas en dos grupos que iniciaron la ingesta etílica bien durante la preadolescencia (PN19, [PN, del inglés: *Postnatal Day*]), bien durante la adolescencia (PN28). El modelo de consumo voluntario con libre acceso a alcohol escogido no pretende ser un modelo de alcoholismo, sino de consumo autorregulado, que induce niveles de ingesta relativamente bajos en el adulto. Respecto a los períodos evolutivos, PN28-42 se ha definido como el período prototípico de la adolescencia en ratas, llegando a persistir algunos de los signos de esta etapa evolutiva hasta PN60

(Spear, 2000). Además de la edad de inicio, otros factores como el sexo y los ciclos repetidos de exposición etílica y abstinencia pueden afectar al desarrollo de patrones de consumo de alcohol.

En humanos, Prescott y Kendler (1999) han encontrado diferencias significativas por sexo, mostrando que la ingesta a edades tempranas se asocia con un mayor riesgo de abuso y dependencia de alcohol en mujeres que en hombres. Aunque las tasas de abuso de sustancias son generalmente menores en mujeres, estas diferencias de sexo parecen reflejar diferencias en la oportunidad de acceso más que en vulnerabilidad hacia el uso de drogas (Becker y Hu, 2008). Un dato que apoya esta afirmación es el hecho de que las mujeres progresan con una tasa más rápida que los hombres por las etapas de abuso de sustancias hasta la dependencia (Lynch, Roth y Carroll, 2002). Asimismo, las mujeres encuentran más dificultad que los hombres para abandonar una vez desarrollada la adicción (Becker y Hu, 2008). Estos resultados son consistentes con los reportados en animales, que indican una progresión más rápida de las ratas hembra desde el uso de sustancias hasta el abuso (Carroll, Lynch, Roth, Morgan y Cosgrove, 2004), y un mayor riesgo de recaídas de las hembras tras períodos de abstinencia (Becker y Hu, 2008). Nuestro estudio incluye ratas de ambos sexos para explorar la posibilidad de conseguir diferencias en el ADE relacionadas con el sexo.

Por otro lado, aunque gran parte de estudios con animales han examinado el ADE a través de una única privación, la investigación ha mostrado que los patrones de ingesta en los seres humanos están segmentados por períodos múltiples de abstinencia y consumo (McMillen, 1997). Para incrementar la validez ecológica del estudio incluimos repetidas fases de privación (durante los períodos de adolescencia y adultez), puesto que estudios recientes con modelos animales han demostrado que la exposición intermitente al etanol puede reducir los síntomas negativos asociados con el consumo de etanol y aumentar la ingesta posterior (Díaz-Granados y Graham, 2007).

Resumiendo, el objetivo de este estudio fue evaluar tanto el efecto de la edad de exposición al etanol (preadolescencia [PN19] y adolescencia [PN28]) como del sexo sobre el ADE (efecto de privación alcohólica) en ratas, usando un modelo de consumo voluntario de alcohol (paradigma de elección de 4 botellas) con repetidas fases de privación (la primera durante la adolescencia [antes de PN45], la segunda antes de la edad adulta [de PN61-89] y la tercera durante la adultez [de PN100-106]). El estudio continúa uno previo (García-Burgos et al., 2009) en el que tres grupos de ratas se expusieron al etanol en tres momentos evolutivos diferentes (preadolescencia, adolescencia y adultez) durante un breve período de 10 días de exposición y después un único período de 7 días de abstinencia. Así, la presente investigación constituye un estudio de seguimiento usando una muestra aleatoria de los grupos preadolescente y adolescente. Dicha muestra fue expuesta en este estudio a dos ciclos más de exposición-abstinencia con la finalidad de analizar el efecto potencial del alcohol a largo plazo con fases repetidas de exposición-abstinencia. Las predicciones del presente estudio fueron: (1) la aparición de un efecto ADE en consumo en ratas que iniciaron su consumo en la peri-adolescencia producido por la experiencia repetida de exposición-privación al etanol, y (2) un mayor efecto en ratas hembra.

## Método

### Animales

Veinte ratas Wistar (10 machos y 10 hembras; dos machos y dos hembras por camada) se seleccionaron aleatoriamente de un estu-

dio inicial (véase García-Burgos et al., 2009). De forma breve, esos animales nacieron de 5 madres de la colonia de reproducción de la Universidad de Granada. Las crías fueron reducidas a 4 machos y 4 hembras por madre en PN2. Ambos grupos se destetaron e individualizaron el día PN18. Las ratas preadolescentes (5 machos y 5 hembras) comenzaron a beber etanol el día PN19 y las adolescentes el día PN28 (5 machos y 5 hembras). La comida y el agua estuvieron disponibles ad libitum durante todo el estudio. Los animales se mantuvieron a una temperatura controlada de  $21 \pm 1$  °C con un ciclo de luz-oscuridad 12:12 (encendido a las 8:00 am). El procedimiento experimental se aprobó por el Comité Ético de la Universidad de Granada, en consonancia con la Directiva del Consejo Comunitario Europeo de 24 de noviembre de 1986 (86/609/EEC).

### Materiales

Los animales tuvieron libre acceso a 4 botellas que contenían agua y tres soluciones de etanol al 5, 10 y 20% (v/v), renovadas cada 5 días, y preparadas con agua corriente y etanol al 96% apto para el consumo (etanol 96% v/v PA-ACS; Panreac Química SAU, Barcelona, España). Las soluciones se presentaron a temperatura ambiente en botes de plástico graduados con una capacidad de 45 ml para las soluciones de etanol y 250 ml para el agua, cuyas posiciones fueron contrabalanceadas en todas las condiciones experimentales para evitar posibles preferencias debido a la localización de las botellas. El consumo de fluido se midió cada día pesando las botellas antes y después de la presentación diaria, mientras que el peso corporal se midió cada dos días.

### Procedimiento

Todos los animales se mantuvieron en cajas individuales de acuerdo con las cuatro condiciones experimentales, definidas según dos variables independientes: sexo (macho y hembra) y edad de exposición al etanol (preadolescente [PN19] y adolescente [PN28]). Puesto que el objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de la exposición etílica a edades tempranas sobre el efecto de privación de alcohol en ratas adultas tras repetidos períodos de abstinencia, se aplicaron períodos intermitentes de exposición al etanol (véase la tabla 1). Durante la exposición etílica, los animales tuvieron libre acceso a las cuatro botellas. Los períodos de privación fueron tres, durante los cuales el único fluido proporcionado a los animales fue agua. El primer período de privación (7 días) fue durante el período de la adolescencia (PN29-35 para el grupo preadolescente y PN38-44 para el grupo adolescente). Antes de la primera privación, las ratas tuvieron acceso libre y continuo a las soluciones de etanol durante 10 días (PN19-28 en el grupo preadolescente y PN28-37 en el grupo adolescente; para más detalles véase García-Burgos et al., 2009). Tras este primer período de privación, los animales de ambos grupos se expusieron al alcohol hasta el día PN60, con el propósito de exponerlos al etanol el mayor número de días dentro del período de la adolescencia tardía (Manrique, Gámiz, Morón, Ballesteros y Gallo, 2009; Spear, 2000). En la segunda privación, todas las ratas se sometieron a un largo período de privación alcohólica (29 días en total, de PN61-89) hasta alcanzar la adultez, igualando el momento evolutivo de exposición etílica en ambos grupos y limitando los períodos de exposición a las edades preadolescente y adolescente. Tras este período de privación, los animales tuvieron acceso al etanol durante un período de 10 días en la edad adulta (de PN90-99). Finalmente,

los grupos sufrieron una tercera privación durante un período de 7 días (de PN100-106) y fueron reexpuestos durante 1 día (PN107). Con todo, la duración total de la exposición intermitente al etanol fue mayor para el grupo preadolescente (46 días) que para el adolescente (37 días). La variable dependiente fue la ingesta de etanol pura (gramos de etanol por kilogramo de peso corporal, g/Kg). El ADE se midió comparando el consumo de etanol del último día de exposición antes de la privación con el primer día de reexposición después de cada período de abstinencia.

*Análisis de datos*

Los datos obtenidos de la autoadministración de alcohol durante la exposición a etanol (g/Kg) se analizaron a partir de un análisis de varianza (ANOVA) mixto con edad (preadolescente o adolescente) y sexo (macho o hembra) como factores entre grupos, y día como medida repetida. A fin de identificar el ADE se realizó un ANOVA mixto con edad y sexo como factores entre grupos y día (pre y post) como medida repetida. Las interacciones significativas se analizaron reduciendo la estructura factorial a un conjunto de ANOVAs unifactoriales. Los contrastes post-hoc se realizaron con la prueba de Newman-Keuls para determinar el sentido de las interacciones y de los efectos principales significativos. La significación estadística se definió con  $p < 0,05$ .

Resultados

*Primer ciclo de exposición-privación*

Los resultados completos y la discusión de este primer ciclo de exposición-privación aparecen en García-Burgos et al. (2009). Los siguientes análisis tienen en cuenta una muestra de aquellos animales (20 ratas seleccionadas de los grupos preadolescente y adolescente en lugar de 28 que presentó el estudio inicial). Los resultados de las veinte ratas seleccionadas, que fueron incluidas en el estudio anterior, se presentan a continuación.

*Consumo durante la exposición breve al etanol antes de la adultez.* Las medias de consumo de alcohol para cada grupo se muestran en la tabla 1. Durante la primera exposición (10 días: PN19-28 para preadolescentes y PN28-37 para adolescentes), el ANOVA 2 (edad)  $\times$  2 (sexo)  $\times$  10 (día) no reveló ningún efecto significativo.

*Tabla 1*

Medias ( $\pm$  EEM) de consumo de etanol (g/Kg) durante los períodos de exposición para cada grupo según la edad de inicio de consumo de alcohol. Los números entre paréntesis hacen referencia a los días postnatales (PN) durante los cuales las soluciones de etanol estuvieron disponibles

Grupo	Sexo	N	Exposición				Días de exposición total
			1	2	3 (PN90-99)	4 (PN107)	
PN19	Macho	5	11,02 $\pm$ 3,1 (PN19-28)	3,9 $\pm$ 0,8 (PN36-60)	2,22 $\pm$ 0,3	1,73 $\pm$ 0,6	46
	Hembra	5	13,08 $\pm$ 2,9 (PN19-28)	5,4 $\pm$ 1,9 (PN36-60)	3,09 $\pm$ 0,7	2,55 $\pm$ 0,7	46
PN28	Macho	5	7,03 $\pm$ 1,8 (PN28-37)	4,7 $\pm$ 1,3 (PN45-60)	1,9 $\pm$ 0,5	2,19 $\pm$ 0,6	37
	Hembra	5	10,1 $\pm$ 3,6 (PN28-37)	4,6 $\pm$ 0,9 (PN45-60)	3,2 $\pm$ 1,2	3,28 $\pm$ 0,8	37

*Evaluación del primer ADE. Privación corta tras una exposición breve al etanol.* Los resultados mostraron una reducción en consumo de etanol en los preadolescentes entre el primer día de la exposición (con una media de 11,38 g/Kg) y el primer día de la reexposición (con una media de 5,88 g/Kg) tras un período breve de privación. Así lo confirmó la exploración de la interacción significativa edad  $\times$  día del ANOVA 2 (edad)  $\times$  2 (sexo)  $\times$  2 (día) (tabla 2). Ningún otro efecto fue significativo.

*Segundo ciclo de exposición-privación*

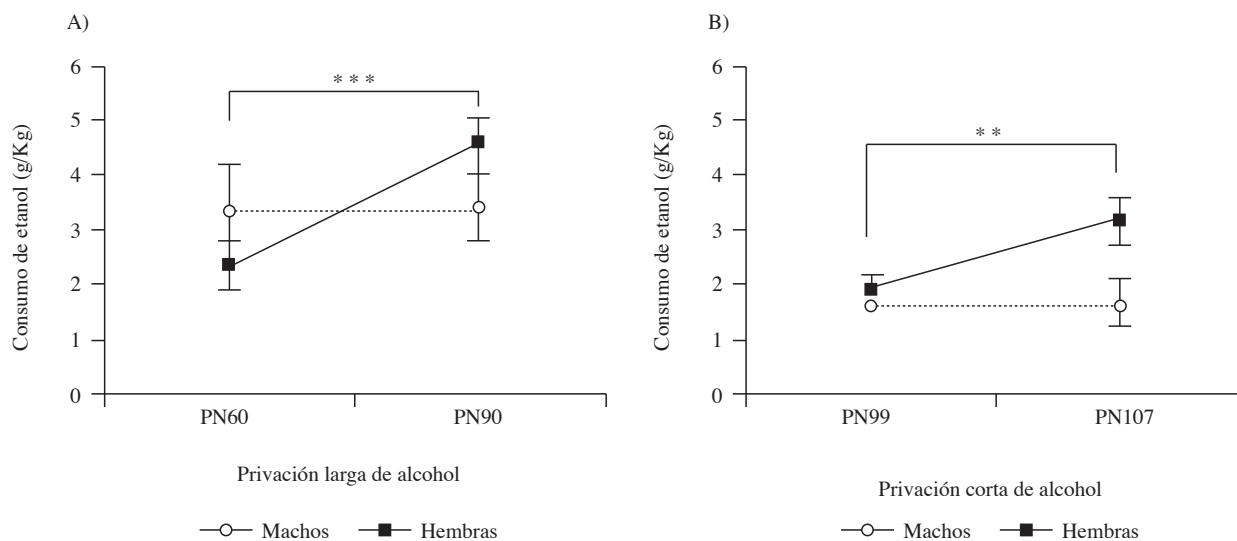
*Consumo durante la exposición prolongada al etanol antes de la adultez.* Aunque las ratas preadolescentes se expusieron durante PN36-60, se comparó la media de consumo de etanol del grupo preadolescente con la media del grupo adolescente de PN45-60 (véase tabla 1), un período durante el cual ambos grupos se expusieron al etanol antes de la segunda privación. Los resultados sugieren una disminución de ingesta de etanol desde PN45 a PN60. El ANOVA 2 (edad)  $\times$  2 (sexo)  $\times$  16 (día) mostró un efecto principal de día (tabla 2). Ningún otro efecto fue significativo. Los contrastes post-hoc revelaron un mayor consumo de etanol en los días PN45 (7,9 g/Kg), 46 (6,5 g/Kg) y 47 (6,9 g/Kg) comparado con el consumo de los días PN51 (3,1 g/Kg), 55 (3,2 g/Kg), 58 (3,3 g/Kg), 59 (3,3 g/Kg) y 60 (3,3 g/Kg).

*Evaluación del segundo ADE. Privación larga tras una exposición prolongada al etanol.* El efecto de una privación larga (PN61-89) de consumo de etanol en la adultez se examinó comparando la ingesta de etanol entre el día anterior (PN60) y el primer día posterior (PN90) a la privación de 29 días (figura 1A). Los resultados sugieren que el ADE en ratas adultas tratadas con un exposición ética intermitente durante preadolescencia y adolescencia o solo

*Tabla 2*

Resultados de los análisis de varianza (solo se muestran efectos e interacciones significativos con sus análisis post hoc correspondientes) de los tres ciclos de exposición al etanol (PN, día postnatal con etanol disponible) y ADE (Pre: día pre-privación; Post: día post-privación) en animales de ambos sexos (machos y hembras) expuestos al etanol en edades de inicio diferentes (preadolescentes y adolescentes). En negrita aparece el ADE. \* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$

	Efecto	Contraste	Contrastes post-hoc
<b>Primer ciclo exposición-privación</b>	Consumo durante la exposición al etanol	No hubo efectos significativos	
	ADE1	Edad $\times$ Día	F(1,16)=5,35* Preadolescentes Pre > Preadolescentes Post
<b>Segundo ciclo exposición-privación</b>	Consumo durante la exposición al etanol	Día	F(15,240)=4,52*** PN45=PN46=PN47 > PN51=PN55=PN58
	ADE2	Día Sexo $\times$ Día	F(1,16)=5,3* F(1,16)=4,59* <b>Hembras Pre &lt; Hembras Post</b>
<b>Tercer ciclo exposición-privación</b>	Consumo durante la exposición al etanol	Día	F(9,144)=14,34*** PN90=PN91=PN93 =PN94 > PN95=PN96=PN97 =PN98=PN99
	ADE3	Día Sexo $\times$ Día	F(1,16)=7,13* F(1,16)=4,48* <b>Hembras Pre &lt; Hembras Post</b>



**Figura 1.** Efecto de privación de alcohol en machos ( $n=10$ ) y hembras ( $n=10$ ) comparando la ingesta de etanol (g/Kg) del último día de exposición con el primer día de re-exposición tras: (A) una privación larga (PN61-89) y (B) una privación breve (PN100-106). Media ( $\pm$  EEM). \*\*  $p<0,01$  y \*\*\*  $p<0,001$  referidos al consumo de ratas hembra

adolescencia está únicamente afectado por el sexo, dado que las hembras consumen más etanol tras una privación prolongada de alcohol. Así lo confirmó el ANOVA 2 (edad)  $\times$  2 (sexo)  $\times$  2 (día), que reveló un efecto principal de día y una interacción significativa sexo  $\times$  día (véase tabla 2). Ningún otro efecto fue significativo.

#### Tercer ciclo de exposición-privación

**Consumo durante la exposición breve al etanol en la adultez.** Los resultados mostraron un mayor consumo de etanol durante los primeros días de exposición (PN90-91 y PN93-94) comparados con los 5 últimos días (PN95-99). El ANOVA 2 (edad)  $\times$  2 (sexo)  $\times$  10 (días), efectuado sobre las media de ingesta de etanol en ratas adultas macho y hembra expuestas de PN90-99 (véase tabla 1), reveló un efecto principal de día (véase tabla 2). Las pruebas post hoc mostraron un mayor consumo de etanol durante los días PN90 (3,66 g/Kg), 91 (3,77 g/Kg), 93 (4,55 g/Kg) y 94 (3,68 g/Kg) comparados con los días PN95 (1,51 g/Kg), 96 (1,65 g/Kg), 97 (1,57 g/Kg), 98 (1,70 g/Kg) y 99 (1,73 g/Kg). Ningún otro efecto fue significativo.

**Evaluación del tercer ADE. Privación corta tras una exposición breve al etanol.** El efecto de la privación corta (PN100-106) sobre el consumo de etanol durante el período adulto fue examinado comparando la ingesta de etanol antes (PN99) y después (PN107) del período de 7 días de abstinencia (figura 1B). Los resultados mostraron un incremento en el consumo de etanol en el caso de las ratas hembra tras la privación. El ANOVA 2 (edad)  $\times$  2 (sexo)  $\times$  2 (día) confirmó un efecto principal de día y una interacción significativa sexo  $\times$  día (véase tabla 2). Ningún otro efecto fue significativo. Los resultados sugieren, de nuevo, que el ADE tras una privación alcohólica corta durante el período adulto solo fue evidente en las ratas hembra.

#### Discusión y conclusiones

Los presentes hallazgos indican que una exposición intermitente al etanol, durante la preadolescencia y adolescencia (PN19-60), o solo durante la adolescencia (PN28-60), es suficiente para

producir efectos de privación de alcohol en ratas hembra adultas comparadas con ratas macho adultas. Específicamente, las ratas hembra exhibieron un ADE tras la segunda (29 días) y tercera (7 días) privación, pero no tras la primera (7 días). Estas observaciones apoyan la hipótesis de que múltiples privaciones pueden incrementar los efectos reforzantes del etanol (Oster et al., 2006). Se ha encontrado en programas de exposición periódica al alcohol y acceso continuo al agua que tras las privaciones se produce un mayor consumo de alcohol (g/Kg) en hembras que en machos (Juárez y De Tomasi, 1999). Estos datos son también consistentes con otros trabajos realizados con seres humanos demostrando que las mujeres presentan un mayor riesgo para las conductas de ingesta tipo-recaída (ADE) tras un período de abstinencia (Becker y Hu, 2008). De hecho, las ratas hembra parecen ser más sensibles a los efectos reforzantes del alcohol que los machos durante la adquisición inicial, la escalada y la recaída (Carroll, Lynch, Roth, Morgan y Cosgrove, 2004). Los estrógenos parecen ser un factor determinante, siendo el estradiol la hormona que potencia la motivación de tomar drogas (Becker y Hu, 2008). Ahora bien, parece plausible descartar el efecto del ciclo estral en los ADEs del presente trabajo, pues estudios previos que han examinado la autoadministración de alcohol en ratas hembra con acceso continuo al etanol durante las distintas fases del ciclo estral no han encontrado cambios en consumo diario total (Ford, Eldridge y Samson, 2002).

Por otro lado, una explicación alternativa para las diferencias sexuales encontradas en el presente estudio puede ser el impacto diferencial que pudiera tener el destete e individualización relativamente prematuros (PN18) en el ADE. Aunque las experiencias adversas en etapas evolutivas tempranas pueden afectar a la ingesta voluntaria de etanol, un reciente estudio que explora diferencias sexuales en las consecuencias de la separación maternal durante las tres primeras semanas de vida ha indicado que la adquisición de la conducta de ingesta voluntaria de alcohol no se ve afectada en ratas hembra (Roman, Ploj y Nylander, 2004). Esta ausencia de efecto de la separación maternal con respecto al sexo es congruente con la ausencia de diferencias en consumo de etanol entre machos y hembras encontradas en el presente estudio.

Dicha ausencia de diferencias en consumo de etanol a lo largo de todas las fases de exposición sugiere que las diferencias en sexo observadas en el segundo y tercer ADE no se deben a un mayor consumo de etanol en hembras. En cambio, parece que las hembras son más vulnerables a los efectos de la privación de etanol que los machos. Este resultado no concuerda con los obtenidos en estudios previos con roedores que destacan la emergencia de diferencias sexuales en los patrones de ingesta de etanol durante el período post-puberal temprano (a los 52 días de edad en ratas expuestas al alcohol durante 30 días), lo que induce un mayor consumo de las hembras frente a los machos durante la adultez (Lancaster, Brown, Coker, Elliot y Wren, 1996). No obstante, es posible que la extensión de las diferencias por sexo en el consumo de alcohol y las características de los patrones de ingesta de alcohol en cada sexo dependan de la secuencia de exposición etílica (Juárez y De Tomasi, 1999). Se ha informado que el consumo mayor de alcohol en ratas hembras adolescentes surge después de 3 semanas de exposición etílica (alrededor de las 6 semanas de edad) (Tambour, Brown y Crabbe, 2008). Sin embargo, los períodos de exposición continua al etanol en el presente estudio fueron inferiores a 21 días, excluyendo el largo período (25 días) de la segunda exposición en el grupo preadolescente.

Nuestros resultados también mostraron que las ratas hembras preadolescentes (PN19) y adolescentes (PN28) no se diferenciaron en la expresión del ADE, indicando que la conducta tipo-recaída posterior no se vio afectada ni por la edad de inicio del consumo, ni por el mayor número de días de exposición al etanol (46 días en el grupo preadolescente). Este hallazgo es consistente con las observaciones previas que demuestran que la edad de inicio en la ingesta voluntaria de alcohol (adolescencia vs adultez) no afecta a la ingesta eventual de alcohol en roedores heterogéneos adultos, y no modifica el incremento transitorio en consumo de etanol después de la privación de alcohol (Tambour et al., 2008). Una posible explicación al respecto es que la historia de consumo alcohólico (por ejemplo, el número de ciclos de ADE) es más importante que el período evolutivo específico de inicio. De hecho, nuestros resultados muestran que la edad de inicio temprana *per se* no produce un ADE en el consumo de alcohol tras el primer ciclo de exposición-privación en ratas preadolescentes ni adolescentes. Sin embargo,

García-Burgos et al. (2009) encontraron un ADE en ratas expuestas durante la adultez tras el primer ciclo de exposición-privación (en idénticas condiciones procedimentales), aunque no un efecto de sexo. Los autores explican esta diferencia en términos de sensibilidad diferencial a las propiedades reforzantes y aversivas del alcohol. Puesto que las ratas adultas muestran niveles de consumo menores que las ratas preadolescentes y adolescentes, las primeras se autoadministran dosis (g/Kg) de etanol moderadas, lo que podría producir efectos positivos más que aversivos. Esto podría deberse a la mayor sensibilidad a los efectos aversivos del alcohol en la adultez, facilitando un consumo autorregulado. Por otro lado, las ratas preadolescentes y adolescentes de ambos sexos consumen dosis (g/Kg) mayores. Es probable entonces que el aumento en sensibilidad a los efectos aversivos del etanol adquirida con la edad promueva niveles de consumo similares a los adultos, con dosis más propensas a producir efectos reforzantes y consecuentemente una búsqueda de alcohol tras la privación. No obstante, a diferencia de los animales expuestos durante la adultez, este efecto fue evidente solo en hembras, dando lugar a la posibilidad de que las hembras sean más propensas que los machos a buscar los efectos positivos del alcohol tras la abstinencia cuando los niveles de ingesta durante la exposición sean similares. Esto sugiere que incluso dosis reducidas de etanol pueden producir un ADE en ratas hembra tras varios ciclos de exposición-privación.

Así pues, los patrones cíclicos de consumo y abstinencia durante la adolescencia y adultez pueden tener severas consecuencias en humanos puesto que períodos previos de privación de alcohol pueden estar asociados con una reducción en el nivel de respuesta a tratamientos para los trastornos de abuso y dependencia del alcohol, particularmente los destinados a mujeres. La investigación de los mecanismos de las diferencias sexuales en la conducta tipo-recaída permitiría una mayor comprensión del abuso de sustancias y una mejora en el tratamiento.

#### Agradecimientos

Investigación financiada por los proyectos #SEJ2006-13851-(MEC), #PSI2008-03933 (MICINN, España), #PSI2009-10627-(MICINN, España) y #HUM-02763 (Junta de Andalucía).

#### Referencias

- Becker, J.B., y Hu, M. (2008). Sex differences in drug abuse. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29(1), 36-47.
- Carroll, M.E., Lynch, W.J., Roth, M.E., Morgan, A.D., y Cosgrove, K.P. (2004). Sex and estrogen influence drug abuse. *Trends in Pharmacological Sciences*, 25(5), 273-279.
- DeWit, D.J., Adlaf, E.M., Offord, D.R., y Ogborne, A.C. (2000). Age at first alcohol use: A risk factor for the development of alcohol disorders. *American Journal of Psychiatry*, 157(5), 745-750.
- Díaz-Granados, J.L., y Graham, D.L. (2007). The effects of continuous and intermittent ethanol exposure in adolescence on the aversive properties of ethanol during adulthood. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31(12), 2020-2027.
- Ford, M.M., Eldridge, J.C., y Samson, H.H. (2002). Microanalysis of ethanol self-administration: Estrous cycle phase-related changes in consumption patterns. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 26(5), 635-643.
- Füllgrabe, M.W., Vengeliene, V., y Spanagel, R. (2007). Influence of age at drinking onset on the alcohol deprivation effect and stress-induced drinking in female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(2), 320-326.
- García-Burgos, D., González, F., Manrique, T., y Gallo, M. (2009). Patterns of ethanol intake in preadolescent, adolescent and adult Wistar rats under acquisition, maintenance and relapse-like conditions. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33(1), 1-7.
- Grant, B.F., y Dawson, D.A. (1997). Age at onset of alcohol use and its association with DSM-IV alcohol abuse and dependence: Results from the national longitudinal alcohol epidemiologic survey. *Journal of Substance Abuse*, 9(1), 103-110.
- Hingson, R.W., Heeren, T., y Winter, M.R. (2006). Age of alcohol dependence onset: Associations with severity of dependence and seeking treatment. *Pediatrics*, 118(3), 755-763.
- Juárez, J., y De Tomasi, E.B. (1999). Sex differences in alcohol drinking patterns during forced and voluntary consumption in rats. *Alcohol*, 19(1), 15-22.
- Lancaster, F.E., Brown, T.D., Coker, K.L., Elliott, J.A., y Wren, S.B. (1996). Sex differences in alcohol preference and drinking patterns emerge du-

- ring the early postpubertal period in Sprague-Dawley rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20(6), 1043-1049.
- Lynch, W.J., Roth, M.E., y Carroll, M.E. (2002). Biological basis of sex differences in drug abuse: Preclinical and clinical studies. *Psychopharmacology*, 164(2), 121-137.
- Manrique, T., Gámiz, F., Morón, I., Ballesteros, M.A., y Gallo, M. (2009). Peculiar modulation of taste aversion learning by the time of day in developing rats. *Developmental Psychobiology*, 51(2), 147-157.
- McMillen, B.A. (1997). Toward a definition of a valid model of alcoholism: Multiple animal models for multiple diseases. *Alcohol*, 14(4), 409-419.
- Oster, S.M., Toalston, J.E., Kuc, K.A., Pommer, T.J., Murphy, J.M., Lumeng, L., Bell, R.L., McBride, W.J., y Rodd, Z.A. (2006). Effects of multiple alcohol deprivations on operant ethanol self-administration by high-alcohol-drinking replicate rat lines. *Alcohol*, 38(3), 155-164.
- Prescott, C.A., y Kendler, K.S. (1999). Age at first drink and risk for alcoholism: A noncausal association. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23(1), 101-107.
- Rodd-Henricks, Z.A., McKinzie, D.L., Shaikh, S.R., Murphy, J.M., McBride, W.J., Lumeng, L., y Ting-Kai, L. (2000). Alcohol deprivation effect is prolonged in the alcohol preferring (P) rat after repeated deprivations. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24(1), 8-16.
- Roman, E., Ploj, K., y Nylander, I. (2004). Maternal separation has no effect on voluntary ethanol intake in female Wistar rats. *Alcohol*, 33(1), 31-39.
- Siegmund, S., Vengeliene, V., Singer, M.V., y Spanagel, R. (2005). Influence of age at drinking onset on long-term ethanol self-administration with deprivation and stress phases. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 29(7), 1139-1145.
- Sinclair, J.D., y Senter, R.J. (1967). Increased preference for ethanol in rats following deprivation. *Psychonomic Science*, 8, 11-12.
- Spear, L.P. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(4), 417-463.
- Tambour, S., Brown, L.L., y Crabbe, J.C. (2008). Gender and age at drinking onset affect voluntary alcohol consumption but neither the alcohol deprivation effect nor the response to stress in mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(12), 2100-2106.